非典非自然起源和人制人新种病毒基因武器

Feidian Feiziran Qiyuan He Renzhiren Xinzhong Bingdu Jiyin Wuqi

主编/徐德忠　李　峰

军事医学科学出版社

非典非自然起源和
人制人新种病毒基因武器

主编 徐德忠 李 锋

军事医学科学出版社

·北京·

图书在版编目(CIP)数据

非典非自然起源和人制人新种病毒基因武器/徐德忠,李锋主编.
--北京:军事医学科学出版社,2015.2
ISBN 978-7-5163-0587-4

Ⅰ.①非… Ⅱ.①徐… ②李… Ⅲ.①严重急性呼吸系统综合症-研究
Ⅳ.①R512.93

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第030690号

策划编辑:孙 宇 **责任编辑**:吕连婷
出 版:军事医学科学出版社
地 址:北京市海淀区太平路27号
邮 编:100850
联系电话:**发行部**:(010)66931051,66931049
编辑部:(010)66931127,66931039,66931038
传 真:(010)63801284
网 址:http://www.mmsp.cn
印 装:中煤涿州制图印刷厂北京分厂
发 行:新华书店

开 本:787mm×1092mm 1/16
印 张:16.5(彩9)
字 数:334千字
版 次:2015年8月第1版
印 次:2015年8月第1次
定 价:50.00元

编委会成员分工和单位、职称

主编：

徐德忠　第四军医大学军队流行病学教研室，教授；INCLEN，CEU，主任

李　锋　总后勤部卫生部防疫局，副局长；中国健康促进与教育协会，副会长

副主编：

王安辉　第四军医大学军队流行病学教研室，副主任，副教授

李广林　陕西师范大学生命科学学院，副教授

张　磊　第四军医大学军队流行病学教研室，副教授

吴秀华　陕西省武警医院消化内科，主任，主任医师

编委：

段广才　郑州大学公共卫生学院流行病学教研室，教授

杨瑞馥　军事医学科学院微生物流行病研究所分析微生物学研究室，主任，研究员

宋亚军　军事医学科学院微生物流行病研究所分析微生物学研究室，副主任，研究员

张景霞　第四军医大学军队流行病学教研室，高级实验师

唐晓凤　第四军医大学门诊部，副主任技师

王　波　第四军医大学军队流行病学教研室，副教授

孙慧敏　第四军医大学军队流行病学教研室，博士后

李　端　第四军医大学军队流行病学教研室，讲师

编者：

苏海霞　第四军医大学军队流行病学教研室，副教授

王颖芳　河南科技大学医学院公共卫生教研室，讲师

徐　锐　第四军医大学军队流行病学教研室，博士

赵宁宁　第四军医大学军队流行病学教研室，助理实验师

前　言

虽然，给我国和全球带来沉重灾难之非典（传染性非典型肺炎，SARS）流行已过去十年多，为何其“来无影、去无踪”的问题却始终未解。即使在其发生十周年之际，发表了诸多议论、文章和专著，却未提及至关重要的非典“起源”！然而，不揭示其真实起源，如何能预防和控制非典卷土重来或类似非典的奇怪新发传染病（如2013年春又在我国首发、同样“来无影”的人H7N9禽流感）发生呢？！这原是个十分浅显、稍有头脑者一想即明白之道理，但关注的人却不多。可能有人认为，非典已经没有了，何必还多此一举追根究底呢？我的回答：否，否，否也！

解开非典真实起源之谜，是关系到防控类似新发传染病、我国和全球安全甚至人类未来生存之万分重要的科学命题！这是否危言耸听？！请读者将本书阅毕自有公论。当然，这也是编写本书的唯一宗旨。

首先，告知读者提及此科学命题或编写本书的起因和过程。在2003年非典流行终止前后，我在中央电视台新闻台、焦点访谈等栏目和卫生部组织的多省区培训班上多次提出：“今冬明春非典必将再次流行”，必须做好应对准备。这是根据几十年对我国传染病流行病学理论理解及其实践，结合非典流行具体规律做出的学术推断。但实际上，仅当年年底至次年年初广州出现4例轻型无续发患者之小爆发和2004年5月结束的3起实验室感染外，全球再无病例和感染发生。

此种意想不到之流行结局引起我极大的关注和深沉的思虑：非典显然违反了新发传染病流行的自然规律，很可能暗含着或大或小深层次之奥秘。我感到此事非同小可，决心探其究竟。然而，飞来横祸，诸病缠身。2010年前后有所好转，思忖尽量应在有生之年，揭示非典起源之谜！

广泛查阅国内外有关非典及其病毒（SARS-CoV）的专业文献，发现了许多非典异常起源之流行病学证据。但是，我深知，这些宏观的论点难以服人，尤其是高科技和DNA知识深入人心的今天；必须挖掘出分子病毒学甚至分子进化的资料作为证据链之有力支撑！功夫

不负苦心人:在日夜的思索中,终于有一夜,脑海突然闪现已研读多遍的一篇描述 SARS-CoV 分子进化论文中的一幅图,并将其和“逆向进化”联系在一起。顿时,豁然开朗:找到了梦想多年、打开非典起源大门之“金钥匙”——“逆向进化”理论和技术!在自然界经长期自然进化、先适应于与人亲缘关系很近的动物、再逐渐适应于人并在其群体中流行之新病毒,必然以“顺向进化”为主;相反,若是非自然起源、未经这个自然适应性进化过程之新病毒,在流行中必然不能适应于人类这种新宿主而出现“逆向进化”,最后离开人群!

第二,非典病毒起源和人制人新种病毒基因武器之间的关系。本书以流行病学、传染病学、分子病毒学、分子生物学和分子进化等大量证据判定 SARS-CoV 为非自然起源,即人为起源。目前,各种恐怖主义活动猖獗,无疑生物恐怖亦毫无例外:随着生物技术日新月异地发展,生物武器、基因武器的研制手段和种类迅速更新。因此,非典病毒的人为起源,不能排除其是恐怖主义者所研制的新型(当代)基因武器。不期,此种推想在 2013 年夏得到了证实。当时,我查阅文献时,偶然发现了某国空军大学空军战时学院空军上校迈克尔·安尼斯可夫(Michael Ainscough)于2002 年4 月撰写的第14 号防扩散系列文件全文,题目为:“下一代生物武器:基因工程应用于生物战和生物恐怖主义”(简称安文),其解密时间可能为 2012 年 12 月28 日;同时还收集到西方其他学者发表在权威杂志的有关当代基因武器具体研制和防扩散技术之论文。从这些发表的文章中,使人们看到了连接非典病毒和当代基因武器之间的桥梁,即在学术上、技术上证明了两者之间的可靠联系(详见本书第四章)。因此,本书对当代基因武器的叙述及其与非典病毒联系的论证,均是以公开发表的文章为依据,并应用我国传染病流行病学理论及其实践经验加以剖析之结果。

第三,主编的感受。某虽不才,然也主编或参编过多本当时国内未见的专著,但从无撰写本书中的下述各种感觉。书写时,似感全身血液在奔腾、每块肌肉在用力;悲愤时欲蹬地使穿,恼怒时欲推倒书桌,激动时欲放喉高歌。因为我国和世界受害者太受伤害和冤屈了!恐怖主义者太凶暴和残酷了!而我国传染病流行病学理论太高明和奥妙了!深信,读者在阅读本书时可能也将会产生同样的感觉。

第四,本书的内容紧紧围绕主题安排,读者一看目录便知。需强调两处。首先,“第四章当代基因(人制人新种病原体和致病基因)武器及其施放”,是在撰写过程中临时增加的。因为看到安文后异常震惊,2002 年4 月恐怖主义者研制基因武器的技术竟已如此高超:6 种内至少2 种,尤其是第五种产生“跨宿主的疾病”(host-swapping diseases)之方法,和 SARS-CoV 起源及其所致流行是何等相似!但在其流行前半年,研制的思路与步骤已经详细记载于此文件之内!所以,我决心更全面深入阅读有关论文,同时结合我国刚发生的人 H7N9 禽流感流行,思考当代基因武器的实际水平应该已达到何种程度?其具体的实验和试验步骤又怎样?其战剂类型和施放方式可能又有何种变化?其所致流行状况和结局又如何?在理

论层面又如何解释和深入？凡此种种，作者应在自己透彻理解、联系实际、合理推断和理论创新之基础上，进行逐层深入、具体翔实、全面剖析、理论和案例结合，才能使读者更清晰、更全面掌握上述有关“当代基因武器”的各种知识，才能使读者理解本书的宗旨和两大主题“非典非自然起源”与“人制人新种病毒基因武器”之间的内在联系。所以，我持这种心态撰写了此章。

其次，附件在本书占很大篇幅。因其虽为“附”，但作用不可小觑。其一，内容专一而系统、具体，如“附件二　和某国际组织总干事的来往信件”中一篇学术报告，仅引用文献即达95篇(其中英文90篇)，全面叙述和论证了 SARS-CoV 的非自然起源。“附件六‘人感染 H7N9 禽流感分布异常及其异常起源之可能’转载”，该文发表于2003年8月，系统描述了当时人感染 H7N9 禽流感流行病学之反常及其病原体分子病毒学的有限证据，表明不能排除其病毒为非自然起源之可能。其二，附件一至四，多方面引证国际上对“SARS-CoV 的非自然起源”的透明或半透明甚至“犹抱琵琶半遮面”之态度和看法或旁证；显然，此对实现本书的宗旨非常重要，但放在正文似欠妥。其三，附件五为发表于“Negative”的“R. sinicus should be reservoir of SL-CoV but not SARS-CoV: critical comments on Ge et al.'s paper in Nature”论文，逐条驳斥了国际某顶级杂志关于“中华菊头蝠为非典病毒(SARS-CoV)的贮存宿主”的错误学术观点。这不仅表明高不可及的杂志也会发表误导读者之论文，也反映迟至今日仍有某些人可能有意无意地阻碍“SARS-CoV 真实起源”的寻求！可见，本书出版之紧迫性和重要性不言而喻。此外，为点明每个附件之主题，均在其首页加“编者注”，便于读者将该文和本书宗旨加以联系。

对于本书，还有几点须谈。鲁迅曾说：“其实地上本没有路，走的人多了，也便成了路。”现更有人言：“没有创新的民族，是没有希望的民族。”虽然现代化之起点较西方晚，但中华民族已有五千多年文明史，群体内传承着“四大发明”的基因，因此即使现在，我国人民的聪明才智和勤奋精神不亚于世上任何民族，不断涌现出令华人自豪甚至轰动世界的一流技术和突破性理论！在编写本书过程中，自始至终我真切地体会着此种情感！本书多处提及并举例说明，我国现在的传染病流行病学理论之系统性、严密性和实践性强于西方有关的理论；在应用“逆向进化”理论破解 SARS-CoV 的非自然起源之前，我们即先应用我国传染病流行病学理论，结合透过现象看本质的哲学思维，在流行病学和临床医学上揭示了 SARS 非自然起源之真相，并且指出其和“人制人新种病毒基因武器”间的联系。不仅如此，在2012年9月，即人感染 H7N9 禽流感在我国流行半年多之前，以我国传染病流行病学理论为指针，我即在学术报告中判断：恐怖主义者进一步推出的为“生态型基因武器”。本书对这些均做了详细描述，并由此上升至新的理论高度，以中文形式首次提出国际上尚无的16种新概念或术语且加以定义，编入“本书提出的新术语”中。

本书虽有7章和6个附件，但仅2个主题，1个目的：阐明“非典病毒非自然起源和人制人新种病毒基因武器”及其相互关系。因此，各章节所引的实例或逻辑推理可能重复，甚至多次重复，然而，其均出自不同的目的，说明不同的学术规律；故实际起到两个作用：其一，强调其重要性；其二，便于读者领悟本书之宗旨。

诚然，编委会邀请到数位分子生物学、分子进化和基因武器领域内知名专家参与，但大部分编者为流行病学学者，且年轻者居多。所以，虽然在撰写前宣布“文责自负”，主编、编委和审者也恪守职责，可是必然仍存在诸多错漏等，请读者见谅并指正。

如上已述，本书抱着民族自强、理论创新的心态撰写，创新必是前所未有，犹如自然界新生幼苗，肯定需不断地培育、修改和完善；换言之，编者仅为“抛砖引玉”，这些“创新”在学术上理论上肯定有不当或不全面之处，需进一步探讨和修改。本书可能为国际上首部；讨论的问题又为学术前沿、有关国家安全和人类健康。为此，敬请读者尤其是学者们的指正。

最后，也是最重要的一点。首先应该感谢主政全军疾病防控的总后勤部卫生部防疫局李锋副局长和肩负重任的军事医学科学出版社孙宇社长，由于他们全力的指导、帮助和支持，本书才得以顺利编写并最终问世；因此，在出版之际，向他们和防疫局、出版社的领导和同志们致以崇高敬意。同时，也感谢支持和帮助本书编写和出版的各级首长、领导、机关和图书馆等有关单位，感谢李良寿教授对第一章提出的修改意见，感谢参与编写的各位专家、编者和他们的家属所做出的奉献和付出的辛劳，感谢我校军事预防医学院、本教研室领导和全体同志以及我爱人、亲友对我身体的照顾。

徐德忠

2015年3月11日

重要文字摘录和照片

1. “人类传染病史告诉我们，任何重大的传染病，都不会在一次发作后就销声匿迹”

——胡锦涛，在全国防治非典工作会议上的讲话（2003 年 7 月 28 日），《十六大以来重要文献选编》（上）. 北京：人民出版社：404-405.

2. “我们要虚心学习借鉴人类社会创造的一切文明成果，但我们不能数典忘祖，不能照抄照搬别国的发展模式，也绝不会接受任何外国颐指气使的说教。”

——习近平主席 2014 年 5 月 4 日在北京大学师生座谈会上的讲话

3. “当前，国内外形势发生深刻复杂变化……要把战斗力标准在全军牢固立起来，把战斗力标准作为军队建设唯一的根本的标准，聚焦能打仗、打胜仗……”

——习近平主席 2014 年 10 月 30 日在古田全军政治工作会议上的讲话

4. “作为一种新的、致死性以及起初知之甚少的疾病，严重急性呼吸道综合征（非典）引发的一定程度的公共焦虑事实上造成向疫区的交通终止而且在整个区域内造成了数十亿美元的经济损失。该病挑战了对新发疾病和易流行疾病相关风险的公共和政治理解，并且将公共卫生整体水平提高到了一个新高度。并非所有国家都感觉到了未来生物恐怖主义的威胁，但是所有国家都关心类似严重急性呼吸道综合征的疾病的来临。”

［世界卫生组织（WHO）：2007 年世界卫生报告：构建安全未来——21 世纪全球公共卫生安全（中文）http://www.who.int/whr/2007/07 overview ch.pdf］

5. “因此，SARS（非典）冠状病毒既不是任何已知冠状病毒的突变体也不是重组体。它是一种既往未知的冠状病毒，可能来自非人类宿主，并以某种方式获得了感染人类的能力。”

［Holmes KV. SARS-associated coronavirus. N Engl J Med. 2003 May 15；348（20）：1948-1951.］

6. “5）跨宿主（交换）的疾病：如前所述，绝大多数的病毒不会引起疾病。在自然界中，

动物病毒的明确(完全适应)宿主范围往往窄……动物病毒往往有一种自然的动物贮存宿主,并在该区域内居住,导致很少或根本没有危害……当这些病毒“跨物种”,它们有时可能会导致严重的疾病。这些例子说明,处置的传染因子可以自然地(naturally)改造成具有非常强毒的生物体。

当这一切自然地(naturally)发生,结果出现一种新的疾病。如果是由人引起的,它将为生物恐怖主义。在有能力、决心和资金帮助生物恐怖分子的实验室,一种动物病毒可能是由基因改造和专门开发制成,并感染人群。新出现的这些疾病,可能为生物战或恐怖主义应用严重的出人意料之后果。

[Michael Ainscough, Next Generation Bioweapons: Genetic Engineering and Biowarfare (April 2002).](注:此文件约在2012年12月28日解密)

7.“究其缘由,不言而喻,因为SARS-CoV为非自然起源,是人为所致;由此可见,SARS-CoV出现之本身,在人类微生物学、传染病学和流行病学,甚至生物学发展史上具里程碑意义:这是地球上第一个非自然起源(经基因改造和动物群体性适应试验制成的人工)生物新品种!我们首次探察到这类生物新品种产生并进入自然界和人类后所经历的进化和逆向进化之历程!其后果可能将远远超出一种新发传染病所带来的影响,而对生物学、医学、生态学等自然科学和社会科学甚至国际其他领域产生巨大冲击!”

——本书第七章　非典病毒的逆向进化及其非自然起源

8.



2003年5月中旬,时任卫生部疾控司齐小秋司长(中)和徐德忠教授在进行防控非典专题第二次《焦点访谈》的准备场景

9.



受全军非典型肺炎防治工作领导小组委派，徐德忠教授(中)率疫情分析专家组赴卫生部协助防控，完成任务后在新闻中心合影(2003 年 6 月)

本书提出的新术语

注:本书提出的新术语,指目前国内外尚未见的流行病学和基因武器术语;是由我们首次提出,用汉语表述。因此,括弧内的英文注,仅供国外学者参考。

1. 中东SARS(the Middle East severe acute respiratory syndrome,ME-SARS):由中东呼吸综合征冠状病毒(the Middle East respiratory syndrome coronavirus,MERS-CoV)引起、中东为自然疫源地、动物为主要传染源、目前在家庭或医院具有限的人-人传播、其病毒和SARS-CoV同为一属且临床表现非常类似的新发传染病。
2. 自然进化型人类新发传染病(emerging human infectious diseases by natural evolution pathogen,EHID-bNEP):由动物病原体,在自然界中经非常漫长持续的适应性进化,不断跨越一系列种间屏障,正在或部分或基本甚至完全适应于人群所致流行的新传染病。
3. 人制人病原体动物群体性适应试验(adaptive trial among animal groups for artificial human pathogen,ATagAHP):将动物病原体(目前主要为病毒)以各种方式和途径,攻击与人类细胞受体十分相似的或与人类近亲的动物,并做多种多样的许多次传代,最终使之适应在该种动物群体内传播,再通过类似方式部分适应于人群。
4. 基因武器型人类新发传染病(emerging human infectious diseases by genetic weapon,EHID-bGW):非自然起源,以基因改造技术和动物群体传代适应试验等方法,将动物病原体,制成人类新品种病原体战剂所致新传染病。目前至少又可分为两种(亚)类型,即“过客型(passenger type)”和“生态型(ecology type)”。
5. 过客病毒(passenger virus),即由非自然进化技术,将动物病毒改造成致人发病、并因完全不适应于人类且无贮存宿主,经一次(间断)流行后即在自然界和人群中消失之病毒。
6. 过客型基因武器型人类新发传染病[emerging human infectious diseases by genetic weapon(passenger type),EHID-bGWpt]:将动物病毒以基因技术改造和动物群体传代适应等试验后,研制成自然界无贮存宿主的人类新品种病原体战剂所致新传染病。

7. 生态型基因武器型人类新发传染病[emerging human infectious diseases by genetic weapon(ecology type),EHID-bGWet]:指针对靶目标区域某种动物作为或改造成贮存宿主,将动物病毒以相应的基因技术改造和动物群体传代适应等试验后,研制成自然界具贮存宿主的人类新品种病原体战剂所致新传染病。
8. 传统基因武器(traditional genetic weapon),指自然界病原体及其产物、其他生物和人类自然存在的基因,经生物技术等实验手段改造后并武器化。
9. 当代基因武器(contemporary genetic weapon),指应用不断发展的生物技术等实验手段结合动物群体性适应试验,对自然界病原体及其产物和动植物乃至人类之基因进行改造,人工产生危害人类和生物界或其某群(个)体之新的物种或致病基因并武器化。
10. 人制人新种病毒过客型基因武器[genetic weapon with artificial new species of human virus(passenger type)或 genetic weapon with man-made new species of human virus (passenger type)],指经基因改造结合一系列动物群体性适应试验等方式,将某些低级野生动物病毒制成对人类致病、致命之人工新品种病毒并武器化。可简称,人制人新种病毒基因武器。
11. 人制人新种病毒生态型基因武器[genetic weapon with artificial new species of human virus(ecology type)或 genetic weapon with man-made new species of human virus(ecology type)],指研制成对靶人群,作为载体的、已经一系列动物群体性适应试验后适应其生态环境和人群、且能作为人制新品种病原体(战剂)之贮存宿主的某种动物并武器化。可简称,生态型基因武器。
12. 生态型战剂贮存宿主动物(animal reservoir with ecological genetic agent),指研制生态型基因武器时,选择适合靶人群生态环境、能长期生存繁殖且和人类密切或较多接触、并能或人工改造为人制人新种病毒(病原体,战剂)贮存宿主的某种动物。可简称,战剂贮存宿主。在传染病流行病学理论上,又可称"人育贮存宿主"。
13. 有限空气传播的人制人新种病毒候选株(artificial new species of human virus candidate with limited air-borne transmission),指将能适应或易经人工改造适应"战剂贮存宿主"、具有毒力高和传播力强、传播媒介多、进化期短、便于基因改造的特定病毒(病原体),进行基因改造和系列动物群体性适应试验,使其产生具在如雪貂群体(相当于人群)内进行有限空气飞沫传播和流行之人制人新种病毒株。可简称,有限空气传播新种病毒株。
14. 人制人新种病毒生态型基因战剂(ecological genetic agent of artificial new species of human virus),指将有限空气传播新种病毒株在雪貂之类群体和战剂贮存宿主群体之间,进行传代-适应-世代循环试验,直至其完全适应于战剂贮存宿主,即能在后

者群体内生长、繁殖、传播、流行，世代往复；然后将其武器化。可简称，生态型基因武器战剂。

15. 致病基因基因武器(genetic weapon with the pathogenic gene)，指针对人类某特定个体或群体的某种基因或免疫状态，经基因改造与研制技术结合包括一系列动物群体性适应试验等方式，制成使上述特定对象致病或致命之人工致病基因并武器化。
16. 判定当代基因武器的"金标准"(the gold standard to recognize contemporary gene weapons)：突然出现之新疾病的发生和/或流行过程及其病原体或致病基因之进化历程均不符合其各自相应的自然史！

目　录

第一章　传染病流行过程和基因武器型新发传染病出现的原因

传染(病)在人群中不断发生的过程称为流行过程(epidemic process)。在西方国家此术语罕见;但从传染病流行病学理论的严密性视之,此术语非常重要、十分必要。在人群中,传染病发生和流行,需具备一定的条件。首先需具有致病的病原体,但绝大部分病原体不能在外环境中长时间生存,仅在宿主(人或动物)体内才能生长繁殖。为达到传播的目的,病原体必须从原宿主(传染源)体内排出、(少数)直接或(多数)在外环境停留一段时间、经合适的门户(传播途径)侵入容易感受的新宿主(易感者),引起新的感染,如此周而复始,造成流行。在此,“易感者”指未受该传染病感染或未进行相应的免疫接种而缺乏特异性免疫力(见下)的个体。若易感者接触传染源及其污染物则易受感染发病;此个体虽然可能同时患有其他多种疾病,但在流行中相对于传染源,仍称其为健康的易感者;为便于公众阅读,本章前几段将“易感者”写作“易感(健康)者”。易感(健康)者指个体,若对普遍易感的群体,称为“易感人群”。

传染病的流行,需要3个基本条件,即三(个)环节:传染源、传播途径和易感人群。此和日常生活中的电器使用相似:电灯亮,必须具3环节:①电灯:灯丝和输入电极均好,可接受电流输入并发亮;故易感(健康)者犹如上述电灯,受传染后即发病;②传输线路(主要为电线):应完好无损,能将供电器如发电厂的电流安全地有效地送至电灯;故电线犹如上述的传播途径,能将传染源排出的病原体传送至易感(健康)者体内;③发电厂:能供电,犹如上述的传染源,能排出病原体。由此,电器能用,三者不可缺一;若一个环节破坏,用电器即失效。相反,将上述传染病流行的3个环节,打掉或控制其中一个,该流行即被控制;这是防控传染病流行的策略:打破3个环节。然而,善于思考者将发现,传染病在人群中具三环节后,若其各自孤立存在,疾病仍不能发生;尚需外力将其相互联系,才能引起流行;此外力为两因素:社会因素和自然因素,即人类及其所处的周围环境。

因此,三环节在两因素之影响下相互联系,传染病即流行。流行后在人群表现出四个流行过程特征(流行特征):强度、地区、时间和人群。流行过程包含三方面内容:三环节,两因素和四特征。本章,将逐次加以阐述。

同时，由于本书的主题为传染性非典型性肺炎（非典；又称严重急性呼吸综合征，severe acute respiratory syndrome，SARS）和基因武器，所以，除在各节有关内容均联系该病加以论述外，加一节“非典等新发传染病之分类和出现的原因”专门论述。

第一节　三环节

一、传染源

传染源（source of infection）：指病原体在其中生长、繁殖并能排出体外的人或动物。其他的生物或非生物不能成为传染源。因此，仅人或动物才能成为传染源。

但西方国家，对传染源的定义并非如此严格，而且，其流行过程的其他有关理论与术语和我国也有差异。正如其他任何学科一样，传染病流行病学也是全人类在和传染病的斗争中建立并不断发展；然而，不同国家和地区，由于哲学思维、社会和自然环境及其实践活动各异，其形成的理论体系必有差别。虽然，总体上目前在生物技术领域，西方强于我国，但按传染病流行病学理论性和实践性及其结合紧密程度而言，我国的理论更贴近实际，其严密性更甚，逻辑性更强，实践成效更大。对于此点，笔者将在本书相关内容中一一加以叙述。

20 世纪 50～60 年代，我国卫生流行病学工作者即应用此理论，在指导防控曾猖獗全国的“五大寄生虫病”和其他重要传染病方面，取得辉煌的业绩。1964 年即消除天花，领先于多个西方国家，为世界所瞩目。21 世纪初在战胜非典、应对目前的人感染 H7N9 禽流感（人 H7N9 禽流感，human infection with H7N9 avian influenza virus）的斗争中，此理论亦发挥了或正发挥着重要作用。再如，对于传染源，2003 年美国疾病控制和预防中心（CDC）杂志的一篇论文，将人类传染病按传染源分为 3 类。其中一类称“sapronoses（按希腊语意，直译为‘变质有机基质’；笔者意译为‘无生命动物物质’）”：包括水、土壤、植物、腐物、动物尸体与排泄物及其他；可致数十种疾病。可见，在理论上和我国之定义不同；从实践及其效果视之，“无生命动物物质”作为传染源也有一定弊病：如许多西方国家多年经常反复发生由多种不同蔬菜受病原体污染引起的爆发流行和食物中毒，卫生防疫机关和人员均追寻至某种污染的蔬菜食品（西方国家称之为“传染源”）并加以处理和控制即止。但是，按我国流行病学理论，必然要追踪至污染此蔬菜（传播媒介）之真正传染源（人或动物），以绝后患。

传染源的种类很多（图 1–1）。作为传染源的人可为患者和病原携带者（定义见下），患者分为急性典型、非典型（轻型、爆发型或极重型）；病原携带者分为潜伏期、病后、慢性和健

康携带者4种。

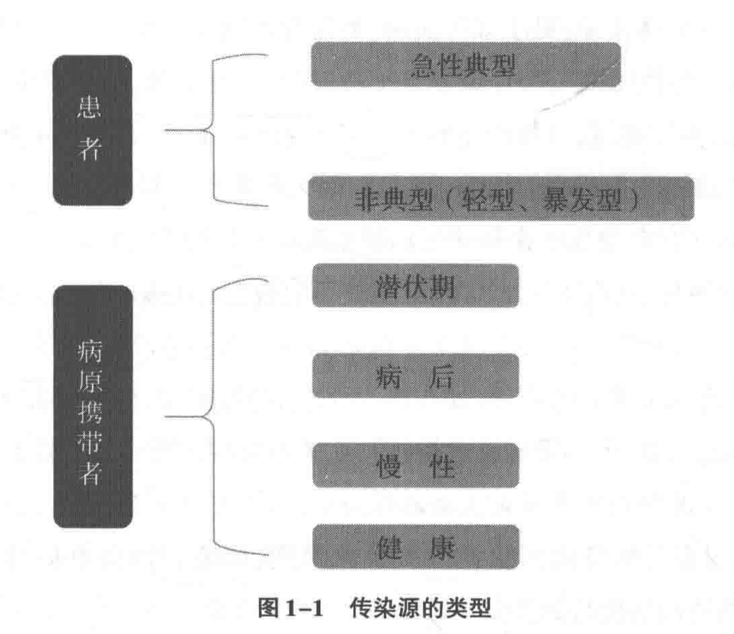


图1-1　传染源的类型

但是,应十分注意,不同传染病的主要传染源类型不同。如非典,主要为患者和受感染的果子狸;除潜伏期和可能的病后携带病原体外,因为其无慢性患者,故携带者很少;另一方面,却出现传染性极强的特殊类型传染源:"超级传播者(super-spreader)",若无有效防护措施,其可在传染期内传染多人甚至几十人,引起医院或社区爆发;在2003年1月至6月,内地和香港曾有十多个甚至几十个"超级传播者";这在我国传染病流行病学史上很罕见。

再如人H7N9禽流感,传染源类型很特殊:目前流行病学和分子病毒学研究显示,能查出传播关系和分离到病例暴露处病毒的仅为市场活禽;而鸟类和养殖场禽类均不是;大部分家养禽亦不是,某些家养禽尚待证实:如2013年11月20日浙江发病1例,家养6只鸡,是否为传染来源需深入调查和研究。此在既往国内外人禽流感流行中均未见报告;而人尚不能作为严格意义上的传染源,因其仅个别重病人可传染给密切频繁接触又无防护措施的家中亲人或陪护人员,此种传播方式称有限的人传人:2013年2月至7月,全国共4起。令人奇怪的是,如人H7N9禽流感首次流行中即出现有限的人传人,在人禽流感流行史上,尚未见(其原因待后细述)。

对此类特殊性,流行病学工作者应十分关注,因为其反映可能存在与普遍规律、自然规律有不同甚至反常之处,即表示其三环节有明显甚至非常明显的异常。

(一)患者

流行病学上,患者作为传染源有下述特点。

1. 不同传染病,患者作为传染源的作用不同

(1)患者是唯一的传染源:见于某些疾病,如流行性斑疹伤寒、天花、麻疹等。因为,此类疾病极少甚至没有“隐性感染”,即受染者几乎均发病,出现症状,便于识别。隐性感染,指易感(健康)者受染后不发病、且可能产生特异性免疫力(见下)。对此类疾病,若管理好患者(如隔离)和密切接触者(如检疫,见下),即能在很大程度上控制流行。

对非典是否确实存在隐性感染和病后病原携带者,其作用又如何?尚未做深入研究,但目前其病毒除实验室外,已在人类和自然界消失,可能已无观察的机会。保守计,将其列入下一类。

(2)患者是主要或重要的传染源:如非典、甲型病毒性肝炎、流行性感冒、埃博拉病毒病(ebola virus disease,EVD)等。管理患者对控制此类传染病流行十分重要。

(3)患者基本不是传染源或不是主要的传染源:如人 H7N9 禽流感,流行性脑脊髓膜炎、流行性乙型脑炎,很多自然疫源性疾病或人兽共患病,如流行性出血热、钩端螺旋体病等。管理患者对控制此类疾病流行的意义不大。

2. 不同发病阶段,患者的流行病学意义不同

(1)潜伏期(incubation period):指易感(健康)者受感染至发病的间隔时间。患者的潜伏期短至几小时,长至十多天、几十天,甚至几年、几十年:不同病种潜伏期不同。

同一传染病,由于传染源排出病原体数量、传入易感(健康)者之途径和易感(健康)者的遗传、免疫、营养与伴随病等状况不同,潜伏期可波动在一定的时间范围:可用最短、平均或常见和最长潜伏期表述。如非典,最短潜伏期为 2 天,平均或常见为 5 天,最长为 12 天;当然,也有报告更长一些的,这在理论和实践上均可解释。

很多传染病在潜伏期末即具传染性。如多个研究已证实,非典患者在潜伏期末即有传染性。此外,甲型病毒性肝炎、乙型病毒性肝炎、细菌性痢疾、流行性感冒、麻疹等亦可。这类传染病,由于症状出现前即可传染,故应特别注意。主要预防措施为,对该传染病患者的密切接触者实施隔离,在流行病学上称“检疫”:将可能成为未来传染源的人限制(隔离)在专门地点,从该密切接触者末次接触开始隔离一个最长或平均潜伏期;由此,不仅在其发病前具传染性时不接触健康者,又可及时发现和诊治患者,这是防控传染病的重要措施。在我国,非典和近期的人 H7N9 禽流感流行时以及 2014 年发生在非洲之埃博拉病毒病传播期间,均采取检疫方式,其防控效果明显。

(2)症状期:大多数传染病在此期间传染性最强。如非典“超级传播者”即出现在此期,人 H7N9 禽流感有限的人传人可能也为此时。

(3)恢复期:多数传染病在恢复期的传染性减少。非典患者分泌物排毒可达病后 20 多天;但初步流行病学研究,未见出院患者引起继发病例。

(4)慢性期或慢性患者:如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、肺结核、细菌性痢疾、血吸虫病、布鲁菌病(布病),常为该病的主要或重要传染源。非典和人H7N9禽流感尚未发现慢性患者。

3. 患者(也适用于病原携带者,下同)不同的个体特征,流行病学意义不同 由于患者的职业、性别、年龄、生活和卫生习惯等不同,在隔离前的活动范围和接触人群的频度与方式不同,其意义不同;患者原有的基础性疾病数量、种类不同,其意义也不同。

患者的职业对传染源接触机会和受染或发病后传播的范围有决定作用。如非典流行中,全球的医院爆发,大多由入院时尚未确诊的非典患者传至医务人员和/或同室患者后引起;也有尚未确诊的非典患者入住宾馆引起的爆发。流行病学研究已确认,我国广州某医院、香港某医院和北京某医院爆发,均由此方式发生;2004年3月至4月北京-安徽实验室爆发中,第2例患者为指示病例之主管护士,后发病成超级传播者。中东SARS和埃博拉病毒病亦有此类状况:医护人员为高危人群,发病率高。

炊事员或保育员一旦染病,成为传染源,将在其服务的餐众或幼儿内,引起肠道传染病(主要为炊事员,但保育员也可)和呼吸道传染病(主要为保育员)爆发或流行。如甲型病毒性肝炎、乙型病毒性肝炎、细菌性痢疾、食物中毒、感冒、流行性感冒、流行性腮腺炎等,在近几十年内的实例,已不胜枚举。

4. 患者免疫状态 此也为个体特征,但对于传染病流行十分重要,故单独列出。

个体即每个人体的免疫力,分为两类:特异性免疫力和非特异性免疫力。特异性免疫力,指受染该病或接受该病疫苗免疫后所产生、专门拮抗该种病原体感染的免疫力,包括体液免疫力和细胞免疫力。体液免疫力,通常称抗体,主要存在于血液蛋白质内,易于测量;细胞免疫力比较复杂,主要存在于血液细胞、淋巴结、胸腺、脾脏和骨髓等免疫组织细胞内,不易测量。体液和细胞两种免疫力,虽其主要作用方式各不相同,但互相联系,相辅相成,缺一不可;各有侧重,如对付急性传染病或传染病急性期,可能以体液免疫为主;而慢性传染病或传染病慢性期,可能以细胞免疫为主;若急性传染病再次受感染,则可能两者同时协调起作用。

非特异性免疫力,包含内容很广,涉及体内成分更多;可由遗传和基因获得,也可由后天获得。其并非特异针对某种传染病,而是对各类传染病均能发挥一定有限的作用;不仅如此,对防御肿瘤等非传染性疾病也贡献良多。

因此,患者免疫状态对患者作为传染源的意义非常大。

(1)非特异性免疫力低下者:如艾滋病与乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎患者,器官移植者、肾透析者和使用激素与免疫抑制药者等,若受染非典病毒后,由于其非特异性免疫力低下,易成为超级传播者;且病情重、易患并发症。

(2)特异性免疫力高者:不仅个体在接触传染源后不受染,将为人群抵御传播起一定的

屏障作用;若人群中特异性免疫力者达到相当比例,则可形成人群免疫屏障。

人群中接种疫苗达到一定比例后,可建立免疫屏障,已有研究结论。但传染病在人群中自然流行,能否形成免疫屏障长期未见报告。20 世纪 80 年代初,笔者在对多个幼儿园甲肝流行进行研究时发现,若幼儿人群中自然(包括隐性)感染抗体水平达到 80% 左右时,其流行即可终止,即形成了免疫屏障。

但是令人惊异,随后的研究又发现,形成免疫屏障的群体抗体水平是相对的。20 世纪 90 年代中期,在某院校甲肝爆发时,虽其群体抗体水平已达 90%,但仍出现流行;研究揭示:由于餐众同时食用了作为甲型病毒性肝炎传染源的炊事员所做的食品:作为共同暴露,其中易感者则仍受染发病。因此,免疫屏障可以有效阻断甲型病毒性肝炎在人群中的密切接触传播。若在共同暴露时,则免疫屏障即不起作用。流行病学上,“暴露”即指“接触”或“密切接触(见下)”;共同暴露,指许多易感者或包括易感者的群体同时接触传染源。

在非典流行期间,有人宣讲:公众不必紧张,流行后,在人群中将形成免疫屏障,流行将自行终止。但根据上述理论,此观点应受质疑:若待人群免疫屏障形成,则因为非典的隐性感染很少(见上),必须有 70% ~80% 的人受染非典后才可能形成,照此,将是中华民族的一场巨大灾难。因而,掌握流行病学理论,熟悉人群免疫力对人群影响的相关知识,对防控传染病流行非常重要。

(二)病原携带者

病原携带者,指受染后无症状或症状出现前或病愈后携带并排出病原体者。主要分下述 4 类。

1. 潜伏期携带者 为潜伏期末即能排出病原体者,如甲型病毒性肝炎、流行性感冒;据初步研究证实:非典亦是。如上述,为防控流行,必须将密切接触者检疫;我国对非典和人 H7N9 禽流感的防控条例中,均有相应规定。

2. 病后携带者 症状消失后尚能排出病原体者,如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、细菌性痢疾、伤寒、霍乱、疟疾等。病后携带病原体的时间不一,有报告霍乱可达 27 天。实际上,有些疾病此阶段已转为慢性期,如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎和细菌性痢疾。已如前述,对非典恢复者是否为病后携带者,尚无肯定的研究结果;但慎重计,规定出院后尚需居家观察。

3. 慢性携带者 病原体携带时间超过 6 个月者。此类携带者可受染后无任何症状,直接成为慢性携带者;也可由病后携带者转至。前者如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎病毒宫内感染或分娩感染的新生儿,或后天隐性感染乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎病毒后,成为慢性携带者。慢性携带者在流行病学上十分重要。因其无症状,不易识别,且活动广

泛,可持续传播很长时间,传染很多人。

但至今,未发现非典和人 H7N9 禽流感有慢性患者和慢性携带者。

4. 健康携带者 受染后未发病且短期携带并排出病原体者。如流行性脑脊髓膜炎、白喉、流行性感冒、脊髓灰质炎。某些传染病隐性感染率高,显性患者很少,且无动物传染源,故在人群中的健康携带者数量很多,可成为此类病的主要传染源,如流行性脑脊髓膜炎。霍乱的健康携带率也较高,尤其是家庭内带菌率可高达 4.0% ~21.7%,其携带时间多数在停止暴露后 5 ~10 天,也可长达 19 ~24 天。

健康携带者,受染时无症状,故其开始实际为隐性感染者。若此类隐性感染者受染后短期携带并排出病原体,则为健康携带者,而非慢性携带者。健康携带者,在非典和人 H7N9 禽流感极少见;最近报告:中国全国流感样疾病监测网(CNISN)于 2013 年 3 月 4 日至 4 月 28 日,在发生人 H7N9 禽流感的 10 个省市 141 医院监测点,采集 20 739 份标本检测发现,人 H7N9 禽流感阳性检出(隐性感染和/或轻症发病)率(/万)的整个样本人群为:2.9(/万,下略);其中,0 ~14 岁组:1.6,25 ~59 岁:4.9,>60 岁:7.2。可见,隐性感染和/或轻症发病率极低,对流行的影响不大;且随年龄增长而升高,很耐人寻味,在后面详细论及。

但应提醒:新 H7N9 禽流感病毒在活禽内可能隐性感染率极高,故对表面健康的活禽不能排除其为传染源,绝不应接触。

(三)动物

1. 动物传染源和自然疫源性疾病 由动物作为主要传染源的疾病,在英文和现在有些中文文献中,被称为动物性传染病或人兽(畜)共患病,此术语有一定学术意义;在我国长期以来,称为自然疫源性疾病,后者与前者涵盖范围稍有差异,但不大。重要性在于:自然疫源性疾病较前者渊源明确,理论严谨,实践性强;仅需查寻 20 世纪 50 ~60 年代的国内文献,即可一目了然。

自然疫源性疾病的理论,是由前苏联学者开发远东地区时从理论和实践结合之基础上提出的;在过去数十年,对我国自然疫源性疾病的防控,做出无与伦比的贡献。从病原体和传染病发展史,从传染病流行病学发展史,从病原体和传染病与周围景观相互作用和发展以及传染病流行病学流行过程理论应用史;从对传染病尤其是烈性传染病(自然疫源性疾病常为烈性传染病)防控实践及其效果出发;从哲学思维和人类社会发展之视点,均可显示出“自然疫源性疾病”这一术语的光芒。

自然疫源性疾病,指不依赖于人类,病原体能在包括特定动物的地理景观内世代循环之传染病;唯人类进入此地域才能受染。此类地区,称为自然疫源地。随着社会发展,人类进步,边防建设,经济开发等,原有的自然疫源地可能遭到破坏,同时形成“经济疫源地”等;自

然疫源地内作为主要传染源和/或贮存宿主的野生动物，也正在将其传染源和/或贮存宿主之角色，扩展和/或转移至家畜和家禽；同时，某些自然疫源性疾病随着传染源或贮存宿主之变化，流行类型与规律和临床表现也在发生某些变化，以流行性出血热较为典型：如有人将新出现的地域或群体，称之为“城市型”或“经济疫源地”类型，其主要或部分传染源和/或贮存宿主已为褐家鼠，家庭聚集性增多，春季的季节高峰更明显，临床病情减轻等。

所以，自然疫源性疾病的经典理论，如同任何科学领域一样，随着社会和科学的进步，日益得到扩展、补充，甚至增添新的分支。然而，自然疫源性疾病理论要点和实质，在一个相当长的历史时期内不会变，将指导我们开发新的自然疫源地，防控新的自然疫源性疾病，在未来国防和经济建设中发挥不可替代之作用。

不仅如此，自然疫源性疾病理论，对我们这代医务卫生工作者和我国人民特别重要，因为这是时代赋予的使命所致：自然疫源性疾病理论，对认识非典和人 H7N9 禽流感的本质和起源十分重要；为应对未来的基因武器也十分重要，由于后者可能大多为自然疫源性疾病病原体基因的改造产物或人工新品种。

甚言之，传染病流行过程理论、自然疫源性疾病理论和分子进化技术结合，是我们破解未来基因武器的金钥匙。

2. 动物传染源分类　动物传染源可分两大类。

(1)野生动物：很多野生动物可作为人类传染病的传染源，自然疫源性疾病的传染源几乎均包括野生动物。

①鼠类：危害最大。为经典的动物传染源，可传播 20 多种病，如流行性出血热、钩体病、鼠疫、恙虫病和地方性斑疹伤寒等，而这些均为自然疫源性疾病。

最近，有两类野生动物(蝙蝠和野禽)应引起警惕。

②蝙蝠：国际已公认，非典病毒的共同祖先为在我国发现的蝠 SARS 样冠状病毒(Bt-SLCoV)Rp3 (DQ071615)株，但非直接祖先；而在其流行后十年内，仍未查见直接祖先，更无贮存宿主；故，现在无法认为非典是自然疫源性疾病；根据研究结果，笔者判断，果子狸不是其贮存宿主，仅为 SARS 临时或特定传染源，不能维持其长期存在和世代循环。

不仅 SARS 的祖先来源于蝙蝠；而且 20 世纪 90 年代以来，逐渐在澳大利亚和马来西亚、新加坡、孟加拉、印度和越南等南亚诸国，出现以蝙蝠为贮存宿主的人类新病毒病，如副黏病毒科(family Paramyxoviridae)的一个新属——亨尼帕病毒属(genus Henipavirus)的亨德拉病毒(Hendra virus，HV)和尼巴病毒(Nipah virus，NV)引起的疾病；发生首次爆发后，流行区域不断延伸，且在动物和人群中间断性散发或流行，至今不息。亨尼帕病毒病可引起严重呼吸道和脑部症状，病情均凶险；尼巴病毒病病死率可达 45%，甚至 75%。目前已经判定其贮存宿主，为不同种类的果蝠[fruit-eating bats，Pteropus spp. Bats；又称飞狐(flying foxes)]，并发

现其可经受染的家畜传播,甚至可发生有限的人-人传播。

2013 年 11 月报告,由中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)所致中东呼吸综合征(MERS,中东 SARS)之起源有重要发现。该病于 2012 年春天在沙特阿拉伯首先出现、当年 9 月再次爆发并不断流行,至 2013 年 11 月 11 日已确诊 153 例,包括 64 人死亡。最近报告揭示,从沙特当地 Taphozous perforatus 蝙蝠分离的一株中东 SARS 新冠状病毒(MERS novel CoV)之重要保守片段和该地确诊的第一例中东 SARS 患者分离株(EMC/2012,JX869059)完全一致,故认为中东呼吸综合征之传染源可能为当地蝙蝠,直接或经家畜家禽传至人。因此,很值得引起关注。

③野禽:高致病性人禽流感,自 1997 年在我国香港以人 H5N1 禽流感类型发生以来,已成为一类新的自然疫源性疾病。当年香港共 18 例。2003 年出现第 2 波,并传至亚非许多国家,病死率高,可达 40%;故危害甚大。至 2012 年 12 月 17 日 WHO 报告,病例数最多为印尼 192 例,埃及 169 例和越南 123 例,我国居第 4,为 43 例。同期,也有其他型别人禽流感发生,但为数不多。

数十年人禽流感(h-AI)流行史显示,其出现之前,该型禽流感(AIV),首先间断或持续先在野鸟至家禽或野鸟和家禽内同时流行,经多年后,且通常由低致病性(LP-)经突变进化至高致病性(HP-)或部分高致病性,才侵入人群。

但是,人们可从人禽流感流行史发现,此次人 H7N9 禽流感出现和既往人禽流感大相径庭:违反了人禽流感进化、发生和流行之自然规律。故不能排除我国人 H7N9 禽流感非自然起源之可能(详见本章第四节)。

因此,今后应密切监测野禽禽流感及其病毒之变化和流行趋向,及时观察其作为人类新出现传染病传染源,甚至“人制人病毒”来源之可能性。

(2)家畜:牛、羊、马、猪、狗等,均可作为很多传染病的传染源。如,狂犬病、布氏杆菌病、血吸虫病、钩体病、乙脑等。其中,狗为狂犬病、羊为布氏杆菌病、猪为乙脑和钩体病的主要传染源。上述这些传染病对人类已适应较好。

但是,有些传染病,尤其新出现的传染病对人类未适应或正处在适应性进化中,如前述,亨尼帕病毒病主要经贮存宿主蝙蝠,或经马、猪等传至人,人传人非常局限;马、猪等能否作为贮存宿主,还有待长期观察。

动物性传染病的患者通常不传染,仅在很偶然的情况下发生传播,如钩体病患者的血液经偶然的途径感染医务人员或陪护;人 H7N9 禽流感和人 H5N1 禽流感,中东呼吸综合征等均发生有限的人传人等。

有限的人传人(limited human-to-human transmission),主要指偶然发生在互相接触非常密切,甚至共同生活(如家庭)群体内之传播,尚不能实现更频繁的家庭内传播或更广的范围

内人传人。这一概念,最近若干年才提出。故应是新术语。其背景,笔者推测:①随着科技的发展,提高了既往尚未发现的局限性传播之能力;②由于经济开发和某些特殊情况等原因,人们接触一些仅适应或正在适应于野生动物和(或)家畜家禽之“某些病原体”,并偶然被受染发病,但这些病原体虽所致病病死率高而人群传播力弱或十分弱。

所以,根据以上阐述,有关业务行政部门和有关专家以及广大医务卫生工作者,应对不同传染病及其各类传染源的特性了解透彻,才能做出准确决策和制定针对性的具体措施;若仅根据三环节的粗框架而不分析当前传染病流行的具体特点,指导防控可能将误导公众,造成国力浪费、人民恐慌、延误时机和疫情蔓延。

关于动物传染源,现在应有新的认识。因为最近我们发现,非典病毒有其特殊性(详见下述和本书有关章节)。动物性传染病基本上属于自然疫源性疾病,其可不依赖于人类在自然界长期存在,在动物界循环往复。由此,此类传染病作为传染源之动物,本身常为贮存宿主(reservoir)。

贮存宿主,指能长期甚至永久维持该病原体存活并不断流行之动物和/或人类群体。故贮存宿主必为传染源,但传染源未必为贮存宿主;传染源可指个体,但贮存宿主则指某些种类的动物和/或人群。在贮存宿主之界定上,又显示我国传染病流行病学之优势,正如前述,西方将“reservoir”可指传染源,也可指贮存宿主;即传染源和贮存宿主在西方学术上无严格界限,可以混用。以此种理论指导防控实践,可造成失误,甚至铸成大错。如SARS-CoV之起源研究,包括我国学者在内的一批国际研究人员,其中不乏知名的学术权威,在过去10年内苦苦地、执著地甚至可喻为一味地在我国大陆和香港,东南亚,甚至涉及欧亚大陆与非洲,在蝠类内寻找SARS-CoV之“reservoir”,从最新文献中可见,有些学者仍在坚持并寄托于未来!此种精神值得学习;但是若能掌握和消化我国传染病流行病学理论之精髓,认识到如下两点,则将可能终止此错误的研究方向:①我国对贮存宿主之定义为,应能长期甚至永久维持……流行之动物和/或人体,且为一类或多类群体;因此,不应如此罕见,不应如此难找!②贮存宿主,应能长期甚至永久维持……流行之动物和/或人体;因此,若SARS-CoV存在贮存宿主,不应在10年内既无患者又无动物感染!而且,可以得出正确的结论:SARS-CoV无贮存宿主,因而不能维持其在自然界或人群中长期存在,故其所致疾病非自然疫源性疾病,应为非自然起源的特殊病毒病。

也由此,我国尤其我军医学界应警惕,世界实际已进入某些动物病毒(病原体)经基因改造结合群体传代试验等研制成而无(或有)贮存宿主之人工新品种病原体导致人类传染病流行的时代。在此,无贮存宿主之人工新品种病原体,可称为“人制人(新种)病原体”;有贮存宿主之人工新品种病原体,可称为“生态型人制人(新种)病原体”(详见下述)。由此,有关的流行病学理论,甚至人类病毒学理论和人类病毒进化理论可能将改写。

二、传播途径

传播途径(transmission route),指病原体由传染源排出体外后至侵入易感宿主之前在外环境中所经历的途径。病原体在外环境停留时所依附的媒介物称作传播因子或传播媒介,如被痢疾杆菌或甲肝病毒污染的水或食物或手;含非典病毒、人 H7N9 禽流感病毒或脑膜炎双球菌的飞沫;携带痢疾杆菌等病原体的苍蝇等,故可将传播途径视为一系列传播因子的组合。在此可见,除个别疾病(如细菌性痢疾、军团菌病)的病原体外,其通常不能在传播因子或媒介中繁殖或长期生存,故与传染源有别;但在西方却可将两者混用,即其有时将在爆发和流行中仅起到传播作用的传播或媒介因子,谓之传染源甚至 reservoir,如上述"无生命动物物质(sapronoses)"。

按易感者受染时间发生在出生前或出生后,可将传播途径分为垂直传播(vertical transmission)和水平传播(horizontal transmission)两大类。传染病的传播绝大部分发生在后天,即水平传播。

(一)水平传播

水平传播主要分如下几种。

1. 密切接触传播(close contact transmission,face to face transmission) 按接触方式不同,分为两种。

(1)间接密切接触传播:即狭义的密切接触传播,又称日常生活接触传播。为通过日常生活的密切接触引起,主要由污染的日常用品和手实现。

肠道传染病和病原体抵抗力较强的呼吸道与经血传播的传染病均可经此途径传播。前者如细菌性痢疾、甲型病毒性肝炎、戊型病毒性肝炎、伤寒和霍乱等;呼吸道传染病如非典、白喉、结核和天花等;人 H7N9 禽流感在家庭聚集病例间有限的人-人传播,可能以此种方式和(或)飞沫传播实现,但尚待证实;经血传播的传染病如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎等。

(2)直接接触传播:指直接经性器官和口-口接吻等引起的传播。经此途径,主要传播性传染病,如艾滋病、梅毒。

日常生活接触传播造成流行的主要特点和流行病学意义:①罹患率低,通常不易形成爆发。②若不采取有力的措施,流行过程缓慢,持续时间相当长:某些在幼儿园和小学流行,可从开学或输入病例开始延至期末;在个别经济落后、卫生条件差、防治机构缺失的农村村落一旦传入,更可常年流行,其间亦可能出现家庭聚集和小爆发。因此,有关领导和防疫机构应负起职责,经常对属地进行巡查和监督,消灭死角;发现病例或个案疫情,不能掉以轻心,

应及时防控。③全年均可发生,无明显季节高峰;若肠道传染病,可在夏季显小高峰;若呼吸道传染病,可在冬春季显小高峰。④有明显的聚集性,常以家庭、学校班级、宿舍楼层或寝室,部队的连排、班或寝室为主。⑤常出现在卫生条件差和/或卫生习惯不良而防疫监督缺失的地区、单位或人群。⑥易判定传染来源和传播方式。同时,传染源易识别,若发动群众,传播途径也易切断;因而对于日常生活接触传播造成之流行,仅需有关机构和本单位领导给予足够重视,不难控制。

2. 饮水传播(water-borne transmission) 饮用水受病原体污染后的传播,为肠道传染病常见的传播方式。可见于某些规模较小、卫生条件较差的工厂、企业、学校,某些单独公用水源的村落;此外,常见于受灾群众、抗灾抢险部队与群体,外出执行临时任务的驻军和工程队等人群,可因水源受染、卫生不良,水量不足等发生。常见的为细菌性痢疾、感染性腹泻、甲型病毒性肝炎、伤寒,甚至霍乱等饮水传播。

饮水传播的主要特点和流行病学意义:①多见突然爆发流行,但突发性稍逊于食物传播和飞沫空气传播方式所致流行,主要因食物传播之病原体量大,而飞沫空气传播易实现,潜伏期通常短。②流行强度,主要和下述因素有关,如污染程度、频度、持续时间,水源水洁治状况、水量、供水范围等,这是判断饮水传播的重要流行病学依据。③当1次性污染时,污染后1个潜伏期,发病达高峰,但饮水污染常见为多次污染或多次暴露。④饮水消毒后1个最长潜伏期,流行控制,但可因日常生活接触传播之存在,出现"拖尾",即流行曲线未因控制措施(如消毒)发生作用后戛然而止,因可经日常生活接触传播引起二代甚至三代病例,形成散发甚至少量流行,故曲线波形在终止前呈"尾巴"状态,根据拖尾现象,不仅可判断传播的方式和次数,尚为诊断流行之疾病提供资料,且利于确定措施之效果。⑤病例分布与供水范围一致。⑥饮生水者多发病,不饮者不发或经日常生活接触传播而少发;如上已述,此为饮水传播的重要依据;同时,也可进行分析性流行病学研究,获取更加可靠的结果。⑦传染来源常在水源或供水网周围,所以,循此线路,结合实验室检查进行流行病学研究,可锁定传染源。

3. 食物传播(food-borne transmission) 经污染的食物传播。污染可来自食物本身或食品采集、加工、运送保存、再加工等过程。主要传播肠道传染病和某些动物源性传染病。饮食卫生差、食品来源杂乱的学校、餐馆、旅馆、小微企业等和临时执行突击任务的部队或单位多见,且在节假日聚餐时更易发生。经此途径,可引起食物中毒和肠道传染病的爆发流行。

食物传播的主要特点和流行病学意义:①突然发生,常为爆发,如常见的各种食物中毒;②临床症状较重,因其受染的病原体数量远高于饮水,故应积极诊治;③食用污染食物1个最短潜伏期后开始出现患者,借此,有助于确定受染时间甚至受染食物;④若为一次性共同暴露,污染食物处理后1个最长潜伏期,流行控制,但亦可发生"拖尾",由此,也可评价措施

效果;⑤病例集中在一个食堂(伙食单位)餐众,此为鉴别食物传播和饮水传播之重要证据;⑥食用受染食物者发病多,不用者不发或经日常生活接触传播少发,若应用病例对照研究,可获更可靠的结果和根据;⑦传染来源常在食堂、食品加工和运送链人员中,因而可为追索传染源提供方向。

4. 空气飞沫传播(air-borne and droplet transmission) 经含病原体的飞沫、飞沫核、尘埃传播。前者称为飞沫传播,后二者统称为空气传播(图1-2)。

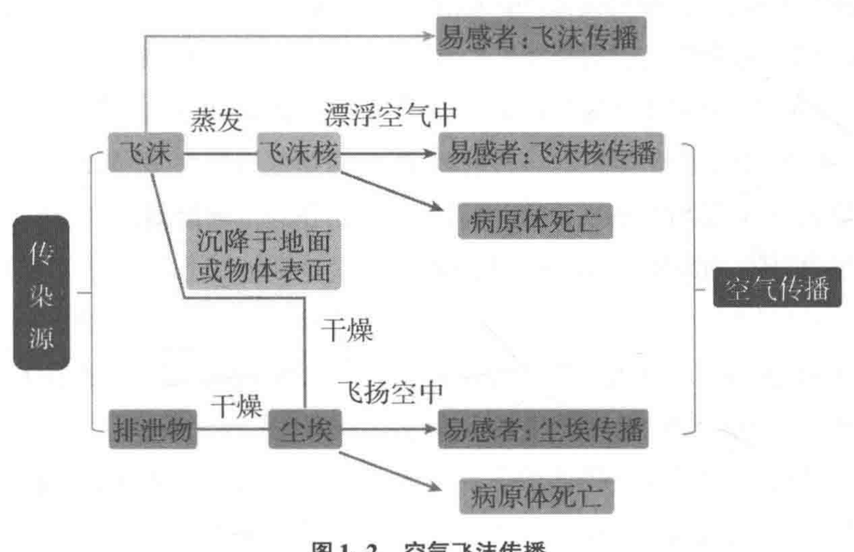


图1-2 空气飞沫传播

飞沫传播和空气传播,虽同属空气飞沫传播,但是两个完全不同的学术概念。两者在定义、传播方式和所致后果等方面均不同。然而,这又在我国和西方流行病学理论之间有差别:前者对两者有严格之定义,但后者经常两者混用。尤其值得注意,甚至应呼吁:目前我国有相当一部分青年流行病学工作者,由于种种原因忽视我国传染病流行病学理论的特点或优势,故在传染病防治实践中造成失误或延误;其中,一个重要的原因为,有些青年学者过分注重实验室的高技术,忽视对我国传染病流行病学经典理论之学习和消化吸收。殊不知,疾病防治,离不开宏观理论和思维,甚至有时较微观实验室研究更重要。著名实例,西方尊之为流行病学鼻祖的斯诺(John Snow)在发现霍乱病原体前29年,即用流行病学宏观调查研究,发现伦敦宽街霍乱爆发的污染来源(传播媒介物)为宽街井水,封闭此井后即控制了爆发。笔者运用此例并非其出于英国,而是大家熟知;实际在近百年甚至更久远,我国先辈们的实践亦光彩照人。青年学者应该认识到:过去如此,现今如此,将来如此,流行病学离不开经典理论和宏观思维!

(1)飞沫传播:患者或携带者(传染源)讲话、咳嗽、打喷嚏等行为产生飞沫的传播。呼吸道传染病均能经此途径传播。

由于飞沫较大,仅能扩散至传染源周围 1.5 ~ 2.0 m,即很快降落地面。故经此途径传播,传染源和易感者两者均必须同时在场,故大多受染者能叙述可疑的传染来源。

(2)飞沫核传播:经飞沫核引起的传播。飞沫的外周,经蒸发,仅留下含病原体的核,称飞沫核。其大小仅 1 ~ 2 μm,可在空气中漂浮约 30 小时,易感者吸入可受染。

对外界抵抗力较强的呼吸道传染病病原体可以经此途经传播,如天花病毒、甲型流感病毒、白喉杆菌、结核杆菌等;而 SARS-CoV 尚不能除外经此途经传播,因我们已有流行病学现场调查证据支持有此途径,但仍需进一步研究。

(3)尘埃传播:经尘埃引起的传播。尘埃:飞沫核进一步干燥后,或传染源的各类分泌物、排泄物在地面或物体表面干燥后所致。易感者吸入含病原体的尘埃,可受染。因其较飞沫核更小,与灰尘一样,可随风飘扬,生存时间更长,传播范围更大,故危害更大。战争时,敌方易将呼吸道病原体武器化,形成尘埃一样的气溶胶,作为生物武器。经尘埃传播的病原体对外界的抵抗力更强,如结核杆菌、天花病毒。

空气传播时,因飞沫核,尤其尘埃能在外环境生存较长时间,传播距离较远,故易感者受染时,传染源可不在场。此点为区分空气传播和飞沫传播的重要依据。按此原理,麻疹患者较肺结核患者易于判定其传染来源。

空气飞沫传播,是呼吸道传染病的主要方式。但是,在此需特别强调,某些自然疫源性疾病在特定之情况下,也可出现空气飞沫传播,经典的如肺鼠疫、呼吸道炭疽。这些传染病病死率相当高,故传统称之为烈性传染病。鼠疫现仍在许多国家列为一类传染病;若此类疾病出现流行,危害十分严重,应引起全体医务卫生人员和公众警惕;更甚,肺鼠疫和呼吸道炭疽病原体均可武器化,制成生物武器。

空气飞沫传播的主要特点和流行病学意义:①易实现、传播广,因其较其他途径简捷;②若人群易感性高,易发生爆发,甚至大范围的流行,此和前一特点也有关,尤其是交通发达的现代,如 2009 年新甲型(H1N1)流感、非典;所以一旦此类传播发生,有关部门应立即启动应急预案,公布疫情,实施防控措施;③冬春季,尤其春季多见,季节性特征是鉴别呼吸道传染病和其他传染病重要之点,但若一旦大流行,即能波及全球的流行出现,季节性特征可减弱甚至消失,如甲型流感大流行,全年均可出现,发生后若措施不及时,可整年流行;④有家庭或群居单位的聚集性;⑤居住拥挤、人口密度高、流动性大的地区或单位多见;⑥除普通感冒、流感等少数疾病外,受染后免疫力常持久。故在儿童或部队新兵中多发;该病久未流行的边缘地区,一旦传入时可造成爆发和流行。

5. 疫水传播 水体污染(简称“疫水”)后经体表致易感者受染的传播。其与饮水传播有别。

经此途径传播的传染病不多,如钩体病、血吸虫病。这两种病均属于自然疫源性疾病。

因而,其有特定的疫源地和流行区域,如我国血吸虫病仅分布在长江流域及其以南;钩体病疫源地也处于一定的地理景观。这些疫区,每年均有程度不同的流行。若临时进入之演习、训练部队,施工作业队,旅行者和进入该区域进行抗灾抢险的群体与人员,在渡江河、涉水沟、进稻田时更易受染此类疾病,因为外来人员免疫力低,常可发生爆发和流行。故有关单位的防疫部门和当地领导,应做好相应的卫生保障;若时间许可,应先进行流行病学侦察。

还需指出,钩体病流行病学和临床类型复杂。总体上,我国北方类型单纯,其贮存宿主和传染源主要为猪,引起的疾病在临床上大多为感冒型;而南方则临床类型复杂而严重,可为肺型、出血型等,病死率很高。故有人将发病严重类型的钩体病病原体,列入生物战剂。

同时,血吸虫病原为解放时五大寄生虫病之一,经10多年奋斗,已基本控制;但近20多年来,又死灰复燃,给国家和当地居民带来很大损失;虽几经努力,离控制尚有漫长路程,因此,抗洪抢险时,应做好相应保障。此外,血吸虫病在临床上有急性和慢性之分,故对上述受染群体,应进行远期随访,及时检出早期的慢性血吸虫病病例,及时治疗,因晚期病例结局不良。

疫水传播的主要特点和流行病学意义:①病例均有疫水接触史,而相互间不会因密切接触而受染,这是判定此类传染病的重要流行病学论据。②大量易感人群暴露时可发生爆发流行,如抗灾抢险、训练演习、助民劳动、团体旅行。因此,在临床类型复杂的南方地区,应全程监测,及时救助。③若一次性涉水,疫水接触后1个潜伏期出现发病高峰;而隔离接触或疫水处理后1个潜伏期,流行即被控,这又是流行病学的重要判定论据。④外来人员发病高,因为当地人群均因先前或多或少与之接触,具有一定的特异性免疫力;这也是自然疫源性疾病普遍的流行特征。

6. 节肢动物传播(arthropod-borne transmission) 常指昆虫传播,由昆虫机械携带或生物性增殖病原体造成的传播。故可分两类:机械性传播和生物性传播。

(1)机械性传播:昆虫体表、口器或肠腔等可携带病原体(一般不繁殖)传播某些疾病。如苍蝇传播霍乱、菌痢。有人在香港SARS爆发时,在蟑螂身上检出SARS-CoV,推测其具机械传播之可能,但有待证实。

通常,此类传播作用有限,且易被阻断。但若在经济和卫生条件差、监督不到位的地区或单位,苍蝇密度高,灭蝇防蝇措施不力,食堂、厕所、室内随处可见,则可发生并促进肠道传染病之流行,甚至出现夏季流行高峰。故此类单位应抓住春末夏初之际灭蝇,并根除其孳生地。

(2)生物性传播:病原体在昆虫体内发育繁殖后具传染性,引起传播。生物性传播在自然疫源性疾病中常见,而许多自然疫源性疾病之病原体可研制成生物战剂,故学者和公众对此传播方式,应加以关注。

生物性传播存在下述类型：

①叮咬传播：如蚊虫传播疟疾、登革热、乙型病毒性脑炎。

②分泌物或排泄物传播：如虱粪传播流行性斑疹伤寒，虱体腔液传播回归热。

③经卵传代传播：如蜱传播森林脑炎，螨传播恙虫病。

生物性传播中，具两条重要的流行病学规律：①病原体和媒介昆虫具特异性相关关系：如我国疟疾由按蚊传播，登革热则由伊蚊传播，乙型病毒性脑炎主要由三带喙库蚊传播，黑热病由白蛉传播。这可能是在长期进化过程中，形成了特定的病原体-媒介-宿主的传播链。②存在外潜伏期：因病原体在昆虫体内发育繁殖需一定时间。自病原体进入其体内至排出体外的时间称该病的外潜伏期。如虱媒流行性斑疹伤寒的外潜伏期为 4 ~5 天；蚊传疟疾为 1 ~6 周，常为 1 ~2 周。外潜伏期的长短受当地气候的影响。

外潜伏期有重要流行病学意义。如在防控自然疫源性疾病病原体研制的生物战剂时，应掌握外潜伏期和昆虫传播的特点。然而，这在实践时常被忽视。外潜伏期的作用：①分析疫情时，除必须依据该病潜伏期外，必须考虑其外潜伏期：如按登革热发病高峰推算伊蚊滋生高峰，必须向前推登革热潜伏期加外潜伏期的时间；②控制疫情时，可藉外潜伏期，抓住时机，扑灭已受染病原体但未完成其发育周期的昆虫。

昆虫传播的主要特点和流行病学意义：①因其传播的大多为自然疫源性疾病，媒介昆虫类型复杂，故流行强度受生态地理、气候气象等因素的影响很强，不同地域、不同景观、不同年份不同，甚至相差悬殊；②具严格的季节性，因昆虫之消长和气候关系甚大，如我国大部分地区，乙型病毒性脑炎仅在夏秋季发生；③流行季节高峰在媒介昆虫密度高峰后 1 个潜伏期(包括外潜伏期)出现；④杀虫、防虫和消除其孳生地，可控制流行，若每年坚持，可削平季节性高峰；⑤发病局限于某些疫源地；外来人员易患：此两点十分重要，对判定昆虫传播及其传播的疾病，均为关键的流行病学证据。

7. 血液(制品)传播 含病原体之血液或血制品引起的传播。如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、丁型病毒性肝炎、艾滋病、疟疾。

(1)经血传播的重要性：由于社会进步和经济发展，我国呼吸道和消化道传染病逐渐得到控制；而另一方面，人们对医疗卫生的需求不断上升，且静脉吸毒又屡禁不止，花样更新；故此类传播更显突出和频繁。此种态势可能将持续相当长时间。

同时，新发传染病中有相当数量的为经血传播，将在第四节详述。

(2)经血传播的主要特点和流行病学意义：①无季节性，可常年发生，因此类传播不受气候之影响，这为经血传播的重要流行病学证据。②除分散静脉毒品使用者外，因医院或诊所之污染血或血制品，常可引起爆发或流行。唯艾滋病、乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、丁型病毒性肝炎等的潜伏期长，时间聚集性不明显；但详加调查，仍能发现其为共同暴露。故

医务人员和流行病学工作者应加注意。同时,还应强调两点。第一,虽然目前我国已有明文规定,输血前应检测这些病毒的标志物,但仍有个别单位执行不力,发生艾滋病和丙肝之爆发,故卫生职能部门应加强监督;因为一旦发生,后果严重:其一,此类疾病的转归相当严重,给家庭和国家造成很大损失;其二,此类疾病尚可经性和密切接触传播,造成家庭和周围人群之继发病例。第二,在流行病学研究时,应着重调查污染血或其制品的来源,污染的程度和频度,输入的时间和受者之范围及其去向和结局等。③大多经血传播的疾病可经性传播,因此,经血传播可同时显现性传播的流行特点。

(二)垂直传播

垂直传播可分为经胎盘、上行性、围产期和种系传播 4 种:

1. 经胎盘传播(transplacental transmission) 孕妇携带的病原体突破胎盘屏障致胎儿感染的传播,也称宫内传播。如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、艾滋病、风疹和 CMV 引起的某些疾病。

宫内传播在流行病学上日显重要:其一,此类传播发生在妊娠子宫内,目前尚无措施可以阻断;其二,从理论上推断,经血传播的疾病均可经胎盘传播;因为经胎盘传播可由三种方式完成:经血,经细胞传递和经两者同时或前后(混合)发生(见下),而这些方式均可经胎盘内血液循环即可完成,故理论上经进化能适应经血并突破胎盘屏障传播的疾病,即可造成宫内传播。目前,经研究证实能发生宫内传播的病毒病,已有 10 多种。其发生率波动在 5% ~ 40%。更惊人的,上述 20 世纪 90 年代才发现、在南亚局部流行、由蝙蝠为贮存宿主的亨尼帕病毒属尼巴病毒(Nipah virus,NV),实验室已证实可在猫体内经胎盘传播。可见,宫内传播疾病,值得国内外传染病学、妇产科学、流行病学、微生物学和免疫学等学科学者和相应机关与职能部门之关注。而且,笔者预言,由于此传播方式引起的疾病愈来愈多,重要性愈来愈显现,同时需多学科的协作,因此,很可能在将来正式成为一个学术新领域。

对乙型病毒性肝炎,世界卫生组织(WHO)曾宣布“2010 年在全球控制乙型病毒性肝炎流行”。显然,此目标未达到,甚至可能还很遥远。作为一名流行病学工作者,笔者认为,主要原因有二:其一,对乙型病毒性肝炎的慢性患者和 HBsAg 携带者尚未发现有效的清除乙型病毒性肝炎病毒(HBV)的药物或方法,无法大量减少传染源;其二,缺乏对 HBV 宫内传播重要性的认识,其研究仅局限在少数单位,尚无阻断 HBV 宫内传播的有效措施。

实际上,对 HBV 宫内传播研究的必要性,不亚于乙型病毒性肝炎慢性患者的有效药物。因为虽然乙肝疫苗的免疫接种效果确实,但却对 HBV 宫内传播无效。由于携带 HBsAg 的产妇将 HBV 宫内传播至胎儿,此个体出生后通常终身携带 HBV,若为女性,仍有可能将 HBV 以同样方式传至其下一代。如此循环,形成世代相传的传播链。

笔者的团队应用分子流行病学和分子进化方法，自1993年开始进行宫内传播及其机制之研究，已获初步结果。病例对照研究，从51个因素中发现，主要危险因素为母亲HBeAg阳性和先兆早产（表1-1），经Logistic多因素回归分析，结果一致。同时发现，孕妇HBsAg滴度和HBV DNA浓度与宫内感染之间相关，且呈剂量效应关系，即两者滴（浓）度愈高，新生儿受染的概率愈高，趋势检验结果分别为$\chi^2=6.353$，$P=0.0117$和$\chi^2=15.49$，$P<0.01$。此后研究又证明，孕中期性交亦为重要危险因素（OR达9.15），亦呈剂量效应关系（$P=0.016$）。

应用免疫组化和原位杂交检测101例HBsAg阳性产妇足月胎盘，表明HBV总感染率达44.6%。

表1-1　乙肝病毒宫内传播暴露因素的优势比

	病例		对照		OR	95% CI	P值
	+	−	+	−			
HBeAg阳性	13	2	120	267	14.46	3.01～95.57	<0.05
人流史	7	8	155	232	1.31	0.41～4.11	>0.05
1产以上	3	12	26	361	3.47	0.72～14.62	>0.05
剖宫产	1	14	78	309	0.29	0.04～2.15	>0.05
先兆流产	1	14	70	317	0.32	0.02～2.44	>0.05
先兆早产	3	12	14	373	6.66	1.31～30.15	<0.05
妊高征	2	13	39	348	1.37	0.00～6.84	>0.05
Apgar低分	1	14	14	373	1.84	0.26～13.11	>0.05

图1-3表示，应用免疫组化法检测，绒毛组织细胞中存在HBcAg。非常有意义的为，从母面蜕膜细胞、滋养层细胞、绒毛间质细胞，至胎儿的绒毛毛细血管内皮细胞（为至胎儿血循环之最后一层），其HBV感染率逐层下降，而宫内感染率却相反，逐层上升（表1-2），且趋势检验呈阳性（$\chi^2=10.97$，$P=0.0009$）。由此提示，感染呈细胞传递方式进行，愈接近胎儿面之细胞感染概率愈低，但一旦接近胎儿面之细胞受感染，其胎儿受染概率愈高。

表1-2　胎盘不同类型细胞HBV感染与宫内感染的关系

细胞类型	病例组		对照组		OR	P值
	+	−	+	−		
蜕膜细胞	6	2	38	55	4.3	0.1343
滋养层细胞	6	2	34	59	5.2	0.0790
绒毛间质细胞	6	2	31	62	6.0	0.0494
绒毛毛细血管内皮细胞	6	2	13	80	18.5	0.0002

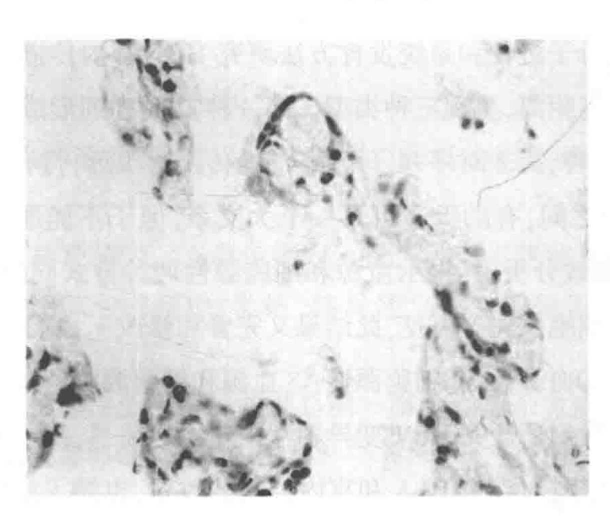


图 1-3 ABC 免疫组化法检测 HBsAg 阳性孕妇足月胎盘绒毛组织中 HBcAg
绒毛滋养层细胞和毛细血管内皮细胞胞核或胞浆中的棕色信号为 HBcAg，苏木精衬染，×400

由此，笔者提出了 HBV 宫内传播主要经两种方式实现之假设：①“血源性”，由于孕妇先兆流产和(或)先兆早产等引起胎盘渗漏，母血直接进入胎儿血循环，致胎儿受染；②“细胞源性”，HBsAg 阳性孕妇胎盘组织受到 HBV 感染，首先累及母面的脱膜细胞，然后经逐层“细胞转移(传递)”至绒毛毛细血管内皮细胞，引起胎儿感染。

此后，我们又研究细胞转移之分子机制，从免疫学和病毒学原理思之，HBV 很可能经细胞的特异和非特异受体侵入，故我们对多种受体进行了实验，比较满意的结果为：应用双标记法与共聚焦显微镜观察，发现 HBsAg-抗-HBs 复合物存在于滋养层和绒毛间质细胞胞浆与胞膜上(图 1-4)。据此，HBV 的细胞转移，其非特异性的一种方式为经 HBsAg-抗-HBs 复合物的形式，可能由 FcγR Ⅲ受体介导而完成。当然，可以肯定，尚有多种尚未发现的特异和非特异受体介导的方式。



图 1-4 免疫荧光双标记技术检测胎盘组织 HBsAg-抗-HBs 复合物，
黄色荧光显示复合物存在于绒毛滋养层细胞，×1560

近几年,我们应用分子进化和系统发育方法研究 HBV 宫内传播,又有新发现:8 对母子的 HBV 之间进化和遗传距离,呈现三种类型。第一种,2 对序列形成单系,具有高度同源性,符合血源性传播。第二种,另 2 对序列,母与子的遗传距离很远,符合细胞源性。第三种,余 4 对母子序列介于两者之间,有的母子可聚一个大支系,但子不能形成单系;有的形成姐妹群;有的却又很远:经细致分析,其提示血源和细胞源性两种方式同时存在,唯有先后之分:有的株血源先,有的株细胞源先。可见,此结果又完善和修改了我们上述之假设,即 HBV 宫内感染应有 3 种方式:①血源性;②细胞源性;③血源和细胞源同时存在的混合源性。

此外,近 10 年来,我们还研究 HBV 变异和宫内传播之关系,揭示两者之间的密切相关,发现一些很有价值之规律;对宿主 HLA 和宫内传播之关系,也做了初步探索。同时,按照研究结果,制定并实施了 5 条防控措施,但未进行干预性研究。本章对此三方面均不做详述。

关于宫内传播,我们用较多篇幅进行论述,主要基于三点。其一,犹如难以防控的自然疫源性疾病,关键在于病原体、媒介和贮存宿主赖之生存的地理景观十分复杂;而宫内传播性疾病,关键在于病原体需经母子双重宿主和母子宿主间纽带-胎盘之内环境同样十分复杂。其二,又如前述,此类疾病既往极少,大多在 20 世纪下半叶逐渐出现,未来将日渐增多,故学者和防治工作者将面临一个陌生而错综的领域。其三,唯有应用宏观和微观结合,传统流行病学和分子流行病学、分子进化等先进方法相结合,全面深入、坚持长久,才能逾越重重障碍,最终揭示其本质,达到防控之目的。

2. 上行性传播 指病原体通过阴道上行经子宫口、羊水、绒毛膜等造成胎儿感染的传播。此方面研究不多,故不能详细描述。

3. 围产期传播 主要指分娩时,母亲携带的病原体经胎儿破损的皮肤或黏膜引起的传播。如乙型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、艾滋病。

围产期传播是大多经血传染病的重要传播途径,上述宫内传播性疾病均能同时经此途径传播。然而,其易阻断,远较宫内传播简单:仅需主动和被动免疫即能预防和控制。如我国政府城乡推广的对 HBsAg 阳性孕妇的新生儿实施乙肝疫苗的免费接种;最早实行的省市报告,幼儿 HBsAg 阳性率已降至 1% ~3%,降低了若干倍,成绩非常显著。故和宫内传播比较,此途径易被有效控制。

4. 种系传播 指病原体经生殖细胞(包括精子和卵子)由亲代传至子代的传播。在理论上似可存在此种传播方式,但在人类中从未得到证实。曾有报道,在 HBsAg 携带者的精子中,存在游离和整合型 HBV DNA,但结果未得到包括笔者在内的诸多学者可靠的重复。但从理论推断,若乙型病毒性肝炎确实存在此种类型的传播,则 HBV 可在人类世世代代经种系传播下去,将变成人类生存的灾难!故对此类研究的结论,应慎之又慎。

三、易感人群

易感人群，指对病原体具感受性的人群。人群对传染病的易感程度称人群易感性（susceptibility）。

1. 人群易感性和人群免疫力 人群免疫力，在此专指“人群特异性免疫力”。特异性免疫力之概念已如上述。文献和书籍中，常将“特异性”省去；若须指“非特异性”，则必须在“免疫力”前加“非特异性”。

人群免疫力与人群易感性正相反。两者是同一事物的两个方面，为相互联系的一对矛盾：即人群易感性高，免疫力即低；相反亦然。

2. 影响人群易感性或免疫力的因素 影响因素很多，主要为病原体的变异、传染病的发生和流行、预防接种、免疫人口所占总人群的比例、人口出生和人口流动等。

（1）*病原体的变异*：其可以使人群中具仅针对原病原体的免疫者，对变异的病原体易感或具一定的易感性。

最典型的为甲（A）型流感，其病毒变异速率快，而且可发生不同动物种类的病毒株重组。其变异和重组总体上有两种类型。①抗原漂移（antigenic grift）：指基因点突变和小变异，使部分人群中原有免疫者具一定的易感性，造成局部流行。②抗原转变（antigenic shift）：由漂移的积累和/或不同动物株的重组，形成新的亚型，使全人类基本成为易感人群，造成全球流行。如2009年世界性流行的甲型流感，是由新产生的病毒——猪源性人甲型H1N1流感病毒（S-OIV）引起，其由8种基因组成，主要来自4种谱系：北美经典猪型，北美禽类，季节性H3N2和欧亚猪型，且和北美流行的三重配体猪型H1N1病毒尤其接近，而后者已存在于北美许多年。

其他变异速率相对较快的病毒，也可不断产生新的准种甚至亚型，使已原有一定免疫力的人群再次受染。如艾滋病、丙型病毒性肝炎、乙型病毒性肝炎等。

（2）*传染病的发生和流行*：是影响人群易感性的重要因素。如上所述，受染传染病后，大多均能产生对该病的特异性免疫力；因而再次流行时，其可不再受染或受染后不发病。这亦为上述提及的自然疫源性疾病当地人群较外来者不易发病之缘由。

相反，若在人群中长时间未有某种传染病的流行，则人群对该种传染病之易感性提高，即人群免疫力下降。经典案例为，20世纪50年代初，西藏上层人士受中央邀请到京国庆观礼和参观，其中一些人员即患成人“麻疹”；因为西藏地处边陲，且为世界屋脊，故已很久未有麻疹传入和流行。

（3）*预防接种*：主要指主动免疫。其原理和传染病的发生与流行相似，即免疫接种后，对该种疫苗预访的传染病产生了免疫力，但不发病；因为用作疫苗的病原体株已灭活或减毒。然而，通常预防接种产生之免疫力，不如自然受染后的牢固。

在此，应强调两点：①任何疫苗，均有不同的接种方式、免疫期限和不良反应与禁忌证；

对此，防疫人员和公众应知晓；②对疫苗接种的效果应及时评价。否则，因免疫接种效差而未达到目的，此在历史上有沉痛之教训。牛痘对天花预防的效果确实；但在牛痘多年普种后的莫斯科，因从1例印度受染后输入发病病例，导致1959—1960年发生天花爆发，史称“莫斯科天花爆发”；主要原因是，由于多种疏漏，使普种的牛痘苗效果不确实。

(4)免疫人口所占总人群的比例和免疫屏障作用：已如上述，免疫屏障作用，指人群中具特异性免疫人口达到一定比例，形成一道“屏障”，阻断密切接触传播链的实现，从而可保护人群中部分易感者不发病，即当后者若仅和暴露于传染源之免疫者密切接触时。此通常用以评价疫苗预防的作用，当人群中免疫接种覆盖率很高，约达80%时，可产生人群免疫屏障作用。

(5)人口出生和人口流动：人口出生，即在人群中增加易感者；因为新生儿从母体血液内进入胎儿的某些病原体之特异性抗体(被动免疫之一种类型)，仅能持续半年至一年，此后其即为易感者。故人口出生率能影响人群易感性。

人口流动：主要视流动人口中具特异性免疫者之比例，若后者高，则能提高当地人群免疫力；若后者低，则能降低当地人群免疫力。

3. 人群易感性的流行病学意义　易感性是三环节之一，故对传染病的流行产生重大影响。因此，研究人群易感性和两因素、流行分布，有助于破解其他两个环节；相反亦然，通过对其他两个环节和两因素、流行分布之研究，利于对人群易感性的认识。因此，对人群易感性的研究，对认识传染病流行的本质非同凡响。

现以2013年2月开始流行的人H7N9禽流感(h-H7N9 AI)为例。此次流行的年龄高峰在60(51~79)岁左右(图1-5)，中位数亦为60岁。这完全出乎学者之意料，因为和国内外既往人感染禽流感流行特征截然不同。对此，专家们持有多种看法。其中，有些认为，年轻人可能轻型或隐性感染多，故老人被高估；或老人接触机会多或免疫力低等；而多数学者则认为，这类年龄分布不好解释；国际组织高级官员、权威学者在疫情通报会上，更是明确指出“我们还看到一些不寻常的情况，例如感染者很多都是老年人，这个原因我们现在还没有办法解释。”

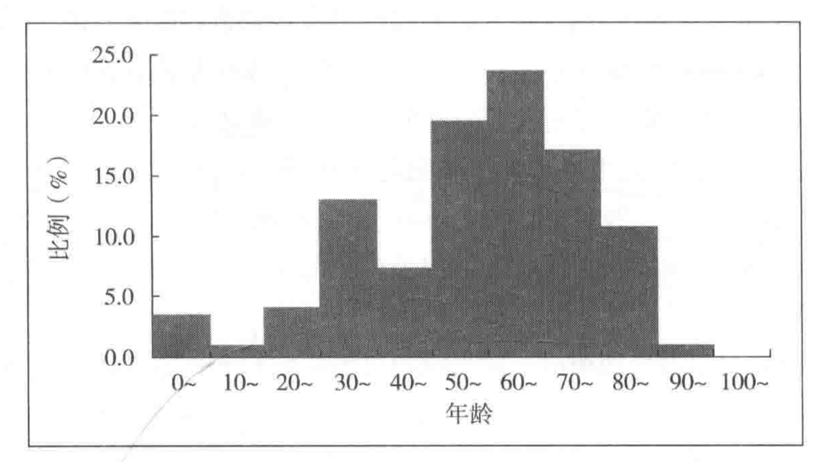


图1-5　人H7N9禽流感发病的年龄分布(中国,2013.2.19—8.12)

(注：数据来自WHO网站)

然而,应用我国传染病流行病学理论做指导,结合既往防控实践和此次流行的实际,分析其确切原因并不困难。我们已发表论文对此进行了深入细致的讨论,现简述如下:流行病学理论通常认为,年龄分布主要受两方面影响,一为免疫力,一为接触机会。

首先,为确认 h-H7N9 AI 年龄高峰的反常,我们查阅文献发现:以往的人禽流感或人流感,多见于少年和青壮年。如人 H5N1 禽流感,老年人发病率低。2008 年 WHO 报告:平均年龄为 21.7 岁,中位数年龄 20 岁,90% <40 岁。按流行病学观点,人禽流感(h-AI)大多尚未适应于人,有些正在适应过程中;而人甲(A)型流感已较好适应于人,可致全球流行。故以 2009 年新(猪)甲型 H1N1 流感大流行为例,丹麦报告年龄别发病率:0 ~ 14 岁 111/10 万,而≥65岁:17/10 万,前者为后者的 6.5 倍;英国和新西兰相似;中国亦然:如香港,年龄别发病率 5 ~ 14 岁为 43.4%,而 30 ~ 59 岁仅 4% ~4.6%,相差达 10 倍。

其次,进行分析。第一,免疫力的影响。如上所述,大多数传染病,易感者受染后,均能产生对该病的特异性免疫力;同时,传染病流行病学理论和实践均可证明,虽有些传染病,如普通感冒、细菌性痢疾、各型流行性感冒等感染后产生的特异性免疫力不牢固或型别多,可反复受染;但又因多次累积或交叉免疫仍可使受染宿主具一定的特异性免疫力。因此,凡能在人群中流行的急性传染病,包括人禽流感在内的人甲型流感(h-A/Inf),老年人群均较年轻人具稍高的特异性(体液和细胞)免疫力,所以呈低发病态势,上述文献结果亦支持此点。

为何 h-A/Inf 和普通人类传染病一样,老年人群也具稍高的特异性免疫力呢?因为,这些 h-A/Inf 均发生在几年甚至十几年之前其祖先病毒,即和新病毒有一定交叉免疫的、包括人禽流感病毒(h-A/AIV)在内的人甲型流感病毒(h-A/IV)流行过的地区;既往无论是禽类抑或人类均有或多或少的暴露,也即不同程度地具新型流感病毒的特异性免疫力。但这次不同:当时已有官方宣布和许多论文、资料证实,H7N9 AIV 从未在中国鸟类和禽类中流行过。故老人多发,最可能的解释为:h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 或 H7N9 AIV 对中国野禽、家禽和人群均为全新病毒,因此,中国老人毫无特异性免疫力,而老人各种功能退化、非特异免疫力低下,且常伴随慢性病,相对于青壮年,其易感性必然更高。对此解释和分析,笔者欢迎学者和公众指正甚至批评,以求获得正确的结论。

按笔者上述的分析,则可以从流行病学推断,人 H7N9 禽流感病毒(h-H7N9 AIV)对我国人群是一种全新的病毒,即和 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV(在动物内流行,和 h-H7N9 AIV 同型)或 H7N9 禽流感病毒(H7N9 AIV)的同类病毒,在中国人群中从未流行过,此也符合许多文献关于 H7N9 AIV 分布的报告。

相反,也可推理,若此次人 H7N9 禽流感(h-H7N9 AI)不是发生在我国,而是发生在先前曾在野禽内分离到 H7N9 AIV 的韩国、蒙古或欧洲北美等国,其年龄分布绝不和我国相同,因为这些国家的人群中具有或高或低的特异性免疫力,尤其是老年群体内。若具一定研

究条件的国内外学者对笔者的预测有兴趣，不妨进行比较性研究，为人类健康做出贡献。

第二，接触机会。当然，老人高发也有暴露机会的因素，如他们到活禽市场的概率高于其他年龄组。但接触机会之作用远不如上述特异免疫力；因其他人禽流感，老人的暴露概率应和人 H7N9 禽流感相似，然前者却年轻者高发。近期刚发表的我国人 H7N9 禽流感流行区之人群监测报告亦完全证实此点。

可见，人 H7N9 禽流感不仅和人禽流感、人甲型流感的年龄分布迥然不同；实际和其他人兽共患病也天壤之别；甚言之，60 岁左右为发病高峰的急性传染病，在人类中绝无仅有，故人 H7N9 禽流感年龄分布不仅是异常，应为反常：和人类急性传染病的流行自然史反常（详见本书附件六）！

第二节　流行过程的影响因素

当人群中具备了传染源、传播途径和易感人群，实际上传染病并不能发生，唯在三个环节受到社会因素和自然因素（两个因素）的影响而建立相互联系之后，才引起流行。此点，常被实际工作者忽视。传染病流行的社会因素和自然因素，称为流行过程的影响因素，简称“两因素”。

一、两个因素的内容

（一）社会因素

社会因素，主要有社会制度，经济发展水平，医疗卫生资源及其利用程度，防疫体系和措施，居民生活卫生水平，生产活动和边防建设，人口流动与交往，风俗习惯以及社会动乱与突发事件等。其中，社会制度和经济水平最重要；尤以社会制度为决定因素。

1. 社会制度　为社会因素中的决定因素。因为，其他因素均和其相关，甚至取决于它。即使经济水平最发达的国家，若社会制度落后，也不能真正地为国内广大人民群众服务，更不能真正地为其他国家着想，不能真正地为人类健康做贡献。

相反，若社会制度先进，即使经济水平不发达，也能全心全意为广大人民群众竭尽全力地服务。最好的例子，新中国成立后，在立即恢复经济、医治战争创伤、抗美援朝的同时，领导、专家和群众三结合，开展爱国卫生运动，派出各种医疗队和防疫队，在短短的 10 多年内，使性病几乎绝迹、消除天花、控制了五大寄生虫病和多种烈性传染病，使消化道和呼吸道传染病发病明显下降；建立公费医疗制度和农村合作医疗以及妇幼保健体系；发展体育运动、

保障人民体质;推行课(工)间操等,显著提高了我国居民健康,大大延长了平均寿命。

2. 经济水平 其对疾病流行的影响不言而喻。经济发展推动包括医疗卫生各行业之蓬勃前进和水平提高。可促使医疗卫生机构数量增加,人员充足,技术先进,设备齐全。所以,西方发达国家不仅医疗中心多,各级医疗机构网络覆盖全国各地,就诊方便;而且各级防疫机构职责明确、落实到位、反应及时。

经济发展水平高,通常其居民的文化和卫生水平随之增高,后者能促进疾病防控知识之普及,利于措施之落实。故发达国家的传染病,尤其消化道和呼吸道传染病发病水平很低;偶尔发生由食物传播所致的爆发或流行,能及时发现,迅速查清疫情及其传播途径与传播媒介,尽快扑灭。对一些多发的慢性非传染性疾病,也开展了大量国际合作和国家级研究项目,取得许多成果,并付诸防控实践行动,如戒烟,控制血脂、血压,因之,心脑血管疾病之发病亦呈下降趋势。

然而,目前经济发展水平高的国家,主要在西方,由于资本主义制度两极分化严重,故暴力和枪击事件频发、民族歧视、性乱盛行等,因此,伴随经济和技术发展引起的社会弊端所致伤病,难以根除,甚至愈加严重。相反,一些发展中国家,尤其是经济发展水平很低的国家,如非洲某些国家,由于生活水平低、粮食供应不足、营养不良普遍、可供饮用水量少;基本的卫生知识缺乏、卫生条件差、蚊蝇孳生地随处可见、医疗卫生防疫机构不足等,由此,除贫血、营养不良、肿瘤等慢性病多发外,消化道、呼吸道、虫媒和经血传染病仍居高位:如感染性腹泻流行严重,尤其儿童,发病率、病死率和死亡率均占世界之首;艾滋病也为全球之高流行区,因为缺少必要的预防措施和比较有效的药物,虽然 WHO 采取多种方法,仍无法遏止其流行增长之趋势。

3. 生产活动和边防建设 人类进步、国家发展均离不开生产活动。然而,若不能遵循科学规律,实施可持续发展和保护人们的生存环境,不仅不能收到生产活动原有的效果,相反却破坏生态地理,造成传染病和环境污染性疾病之发生和流行;或者由于科学技术之提高,日常使用的新产品和新设备,为原有尚无传播能力的病原体提供了生存繁殖之条件,造成新发传染病之流行。

后者的经典案例,为美国费城 1976 年 7 月出现的“退伍军人病”(军团菌病)。其由军团菌(嗜肺性退伍军人病杆菌)经空气(主要为空调系统)传播、临床上以严重肺部感染为主的传染病。若不明确诊断、及时治疗,病死率较高。经调查,早在 1968 年 7 月密歇根州奥克兰县卫生研究所即发现此病爆发。军团菌原存在于土壤和灰尘中,但可能量小,不能使人致病,更不引起流行;而当空调发明后,军团菌可通过多种途径进入空调系统,并在其中,特别是其水体内大量繁殖,尤其在夏季,温度高,繁殖速度快、量大,故可致室内大批人员共同暴露,造成爆发和流行。此后,在世界多国,包括我国,均见军团菌病爆发和流行之报告。故对

新的生产活动或出现的新产品,应进行一定的卫生监控和追踪,具重要意义。

边防建设必不可少。但是,边防设施或基地常在崇山峻岭和人烟稀少之处,而其却正是许多自然疫源地的地理景观。历史上,各国均有许多相关的流行病学实例。因之,开工前,必须派小分队先实施卫生流行病学侦察,收集野生动物、媒介昆虫、土壤植被和气候气象等资料和标本,进行整理和实验室检验甚至病原体分离,综合分析可能存在之传染病,尤其是自然疫源性疾病,提出应对方案和措施。

4. 人口流动与交往 主要涉及免疫和易感人群之流动,影响各地人群之免疫力和易感性(见上述“易感人群”);甚至输入传染源,引起该地流行。我国台湾、香港以及马来西亚、加拿大出现的人 H7N9 禽流感病例,是由我国大陆居民或上述诸地游客往返大陆受染后输入的;由于当局采取了及时有效的措施,故未见经有限的人传人传播引起的续发。所以,也提示人 H7N9 禽流感目前之疫源地仅限于我国大陆。

5. 风俗习惯 对传染病的发生和流行有一定影响。著名的例子,为病毒学学者、诺贝尔奖获得者 Gajdusek 在 20 世纪 50 年代末至 60 年代发现的“库鲁(Kuru)病”,其为一种经特殊传播途径(如吃人肉)引起的以小脑变性为主要症状的慢病毒传染病。库鲁病流行区位于新几内亚东部高地,当时居住地土著居民尚处在原始社会。通过流行病学和病毒学研究,判定此病之传播和当地土著居民的食人俗葬礼有关;而改变此习俗后,发病明显下降。

在此,笔者提出一点似为题外却又重要、很耐人寻味的想法:Gajdusek 对人类健康和进步,做出了无与伦比的贡献;他不仅发现了库鲁病及其危险因素和发病机制,而且开辟了一个包括疯牛病在内的慢病毒传染病学术新领域,在人类传染病和流行病学史上树立了新的里程碑。但是,在发现新传染病征程中做出奉献的诺贝尔奖获得者中,却罕见流行病学家。此可能需国际学术界、传染病学和流行病学界和颁发诺贝尔奖有关机构,应该深深思考!

6. 社会动乱与突发事件 其对于传染病流行之影响,不言而喻。发生入侵或内战,各类恐怖袭击事件,各种动乱,地震、台风、洪水、干旱等灾害,……,使当地的经济、生活、交通、居民迁移、卫生条件、医疗卫生机构,……,均受不同程度之破坏或损害,形成传染病流行之温床。

(二)自然因素

自然因素主要指气象和地理环境。对不同种类的传染病,自然因素影响的方式和强度不同。

广言之,按病原体对人类适应的程度,通常将传染病分为三类。众所周知,人类由动物进化而来,因此使人致病的病原体主要来源于动物。所以,其一,这些病原体和动物界存在某种联系。其二,这些病原体在人类数百万年之进化历程中,和后者相互作用、相互适应。

故根据病原体对人类适应的程度,将传染病分类,对其进化发展、三环节两因素之认识,研究其流行病学规律和制定防制对策均有重要意义。之前,仅分为如下前三类,第四类为笔者根据新情况而提。

1. 完全适应于人 人可作为传染源,且可作为贮存宿主;传播途径常为口-口或粪-口,不需任何生物性媒介,故为人传人的疾病。如天花、白喉、麻疹、细菌性痢疾、病毒性肝炎等。大多呼吸道传染病和消化道传染病属于此类疾病。此类传染病,通常少见动物性传染源。

从理论推测,与第二种、第三种类型比较而言,呼吸道和消化道传染病之传染源普遍、传播途径很易实现,故在人群内流行的周期多且范围广,因之在进化的长河中,易于适应于人;当然,也可能此类传染病在动物界内出现最早,其病原体在动物群体或早期人类中,传播途径十分广泛或非经呼吸道或非经消化道传播,而在和人类社会共同进化、相互作用之历程中,逐渐适应于人类并以呼吸道或消化道途经传播。

对此类传染病,自然因素主要影响其传播途径和人群易感性。

2. 对人类适应尚好 仍需生物性媒介才能完成整个传播过程。此类疾病是人可作为传染源的一些虫媒传染病和寄生虫病,如疟疾、登革热、流行性斑疹伤寒、血吸虫病等。此类传染病主要源于自然疫源性疾病,可能因一方面传播途径复杂,需经媒介昆虫或中间宿主完成;另一方面,其原有的野生动物宿主易于驯养为家畜,和人群接触密切。故对人类应为半适应状态。

对此类传染病流行,自然因素的影响很大,主要表现在对媒介昆虫或中间宿主的作用。

3. 对人类适应不好 人类作为传染源的意义不大或不能作为传染源,如鼠疫(肺鼠疫除外)、恙虫病、森林脑炎、流行性出血热、钩端螺旋体病等。大部分动物源性疾病和自然疫源性疾病属此类疾病。可能其仅局限于一定的地理景观,因而和人类之关系不如上述两种类型密切;在人群内流行之频率低、涉及面小,或虽经大流行,如鼠疫,但由于传播链易于打破、疫源地又散在或僻远,故适应性差。

对此类传染病流行,自然因素主要影响其动物宿主和/或媒介昆虫的生存环境,促进或制约流行的发生。

但是,目前出现了重要的新情况!新世纪发生了令世人惊愕的新问题!在科技高度发展,尤其是基因工程、基因改造技术突飞猛进之今天,出现了非自然产生的新品种病原体;即经过基因改造和动物适应传代试验,将原先仅在动物,尤其是低级哺乳动物中流行的病原体,改造成能在人类中流行的新品种致病微生物。将此类致病微生物,笔者称之"人制人(新种)病原体";因目前从流行病学、传染病学、分子病毒学和系统发育学诸方面能判定的,仅一种新病毒,故谓"人制人(新种)病毒"。

上述按新病原体对人类的适应程度,将传染病分为三类的方法,是笔者20世纪50年代

末、60年代初在北京医学院(北京大学医学部前身)上学时,在朱聃教授主编的《流行病学》讲义内归纳的;迄今,仅有个别文献能见类似的描述。

然而,和宇宙任何事物的发展一样,病原体也在和自然与人类社会相互作用下进化;若加之人类现代甚至超现代高技术的干预,出现“人制人病毒”不足为奇。但是由于此类病原体是在十分特殊之条件下产生的,故其和人类相互作用、对人类适应的程度,完全和上述三类传染病不同,呈现非常复杂甚至非常难以研究的状态。故笔者大胆提出,应将其归入新的类型,即增加一类,第4类。

4. 对人类完全不适应　某种“人制人病毒”,可使人类作为传染源,且可人传人,故致该“人制人病毒”病在人群中流行,甚至扩展至全球几十个国家。但是,人类不能作为贮存宿主,且在自然界也无动物贮存宿主,故仅能在人群中一次或一次的多阶段流行后,即在自然界和人群中消失。

因为任何传染病,包括已被消灭的天花,均在人群或动物界有贮存宿主,所以,在自然因素如季节和(或)社会因素如疫苗接种的影响下,在人群中暂时不能或停止流行时,该传染病病原体可在其贮存宿主内生存繁殖甚至局限性流行,待时机合适,则可卷土重来,在人群中再次流行。这为自古至2002年为止的一部人类传染病流行自然史,除20世纪70年代消灭的天花外,无一例外。

但非典的出现,则改写了历史。上述“某种‘人制人病毒’”,即为非典病毒(SARS-CoV)。为何非典呈现上述和其他传染病截然不同的流行病学异常表现?其原因主要在于其起源:非典病毒并非由某种动物病毒自然进化而成。目前,国内外学者均认为,蝠SARS样冠状病毒(Bt-SLCoV)Rp3株为非典病毒之祖,但非直接祖先;至今找遍几大洲,未发现其直接祖先和贮存宿主。故笔者戏称:非典病毒之曾祖已找到,但祖父母、父母亲均未见,而后者可能贮存在某个黑暗的角落内。

2013年末,有人在顶级权威杂志上发表实验研究论文,认为“中华菊头蝠(Chinese horseshoe bat, R. *sinicus*)为SARS-CoV的贮存宿主”(详见本书附件五)。而且,此观点在国内外刊物和媒体上引用和传播。然而,此论点缺乏科学性和可靠性,因此是错误的:①无任何流行病学证据:未发现中华菊头蝠间接或直接致人引起SARS,而流行病学证据应是判定贮存宿主的金标准。②实验研究的证据亦不足:其仅根据从此蝠分离到的Bt-SLCoV经细胞培养后的2株病毒,在与人细胞受体[血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)]结合的SARS-CoV某些氨基酸(AA)及其核苷酸(nt)序列较已往的SL-CoV更接近SARS-CoV。然而其一,其主要AA和2002—2003年SARS-CoV流行株较接近;但和2003—2004年广州爆发SARS-CoV株则完全不同;其二,此2株病毒的特征性29-nt和已往的Bt-SLCoV一致;却和狸与人SARS-CoV株则完全不同。而特征性29-nt和SARS-CoV毒力、传

播力和跨越动物种间传播有密切关系。③国际上许多研究早已证实,也为众多学者所认同:中华菊头蝠能长期携带 SL-CoV,且能在同类群内传播,但非 SARS-CoV。④此次分离到 Bt-SLCoV 的蝠,是于 2011—2012 年即 SARS 流行后 9 年才收集到,且在远离 SARS 主要流行区之昆明,故不能排除其为时间和地区混杂因素所致。⑤若中华菊头蝠真为 SARS-CoV 的贮存宿主,则不可能在 2004 年 6 月后再未见 SARS 病例。⑥若中华菊头蝠真为 SARS-CoV 的贮存宿主,则不可能除实验室外,2004 年 6 月后再未在自然界和人群中未分离到 SARS-CoV。故正确的结论,应为“中华菊头蝠为 SL-CoV 的贮存宿主”。也即在自然界,蝠仅为 SARS-CoV 远祖 SL-CoV 的贮存宿主(此点,早为国内外学者所公认),不可能为 SARS-CoV 的直接祖先之携带者;自然界不存在 SARS-CoV 之直接祖先。此亦为下述结果之原因:在高科技极为发展之时代,国内外广大学者,竟用 10 多年时间、费无数之精力和物力,终未在自然界寻查和研究发现 SARS-CoV 的直接祖先和贮存宿主。可能,也由于他们主要仅从微观考虑、仅从一个方向考虑此复杂而全新的科学问题。判定非典病毒为非自然进化起源之主要证据,将在第四节详述。

在此,还应特别指出,由于基因技术日新月异,由于各种因素的影响,今后经“非自然”方式产生的病原体种类将增加。从笔者研究 SARS 和 SARS-CoV 的积累视之,可以推断两点。第一,此类“人制人病原体”的出现,虽已经历 10 多年,但以后将在相当长时间持续不断生产;换言之,今后的产品仍将为“人制人病毒”,仅为更新版或二代、三代更新版,而绝非“人制人细菌”。第二,很可能其对人类适应程度将提高,并能培育出相应的贮存宿主,使“人制人病原体”能在其体内生存繁殖,在该地区不断流行,甚至使该地域成为地方性流行区。对此,笔者根据传染病流行病学理论和人类传染病史做了某些设想:应用人工适应性实(试)验等方法,如人为改造又经人工传代适应甚至现场试验研制成“人育贮存宿主”;后者必须具备如下条件:①“人育贮存宿主”动物,必须选自将来被施放回去的地区(靶目标或靶地区)。②其能携带、生存、传播并在其种群内传代上述“人制人(新种)病原体”。③其能在靶地区自然界内长期生存繁殖传代,而不受到该地自然和社会生态之伤害。④不易被靶地区人士识别和揭示。从基因武器角度,笔者将“人育贮存宿主”谓之“生态型战剂贮存宿主动物(Animal reservoir with ecological genetic agent)(简称,战剂贮存宿主)”(详见第四章);将能适应于“人育贮存宿主”的病原体,称为“人制人新种病毒生态型基因战剂(Ecological genetic agent of artificial new species of human virus)(简称,生态型基因武器战剂)”(详见第四章),以别于无贮存宿主之 SARS-CoV(过客病毒,见下)。

二、两个因素的作用方式

社会因素和自然因素对流行过程的影响主要通过对三个环节的作用。其方式主要有下述两个特点。

1. 双向性 一方面,两因素能使相互孤立的三个环节发生联系,造成传染病的流行。另一方面,也可以影响甚至打破三个环节之间已建立的联系,减弱或中止流行(图1-6)。例如,自然因素的作用:进入夏季,气候变热,可使冬春季处于流行高峰期的呼吸道传染病得到遏止;社会因素的作用:2003年春季流行的SARS,由于政府在4月份采取了十分强有力的措施,使其迅速得到控制。

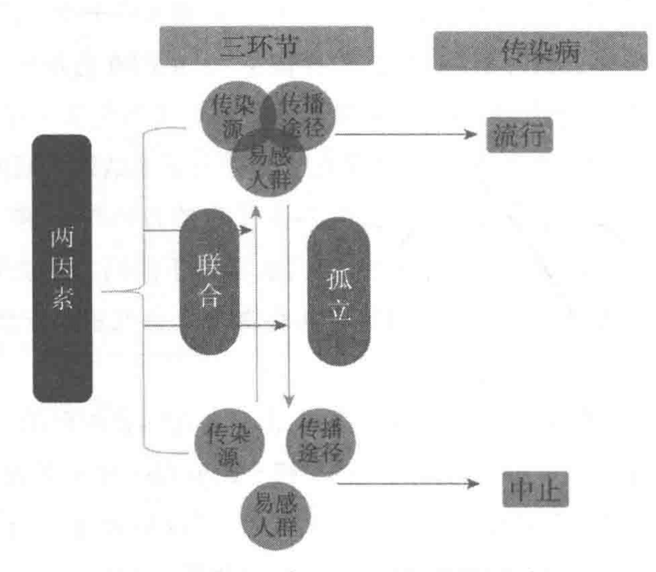


图1-6 两个因素对流行过程影响的示意图

2. 两个因素对三个环节的孤立或联合 这是通过对传染源和(或)传播途径和(或)易感人群实施影响实现的(图1-6)。例如,自然因素的作用:寒冷季节,人们户外活动少,室内人员聚集,相互接触增加,通风差,使飞沫传播易于实现;气温低,使易感者呼吸道局部的非特异性免疫力下降,易感性升高。由此,既增加了传染源和易感人群之接触机会,又为飞沫传播创造了条件,同时提高了人群的易感性,三管齐下,故呼吸道传染病的流行在冬春季常见。

社会因素的作用:某施工单位,需进入未开垦、灌木丛林地区,经初步流行病学侦察发现,该地区为流行性出血热自然疫源地。故在进入前,领导、技术人员和工人均接种了流行性出血热疫苗,提高了群体的特异性免疫力。在该地进行了三次灭鼠,住地周围又挖了防鼠沟,控制传染源和减少暴露。可见,采取的措施可从2~3个环节上对流行过程加以阻断,防止该病的爆发流行。

由上可见,两个因素在传染病流行过程中起着十分重要的作用。在社会因素和/或自然因素的影响下,三个环节才能互相联系,使传染病在人群中发生流行;相反,在传染病流行时,采取措施,切断或孤立三个环节,流行即能被控制甚至中止。

同时,流行病学工作者和公众应认识到,掌握两个因素及其在传染病流行过程的作用,不仅能在预防或防控中争取主动,而且在疫情分析时,通过两因素结合分布特征的具体分

析，有助于追踪传染源、准确推断传播途径和确定易感人群。

第三节　流行过程特征和流行过程的内在联系

一、流行过程特征

传染病流行时在人群中表现的三维特点，称流行过程特征，又可称“人群现象”。人群现象主要见于上述朱聃教授主编的讲义，虽为个别院校或部分学者之观点，在文献中亦罕见，但笔者感到：“人群现象”这一术语，在认识、表达和分析传染病流行规律时，有特定的重要意义：其一，流行过程特征，确为流行时三个环节和两因素相作用后在人群中产生的现象；其二，有助于进行正确及时的流行病学分析，因为流行发生后，流行病学工作者能首先收集和调查到的即为“人群现象（流行过程特征）”；而三个环节则需经分析这些人群现象和两因素，才能揭示。因此，流行过程特征为现象，三个环节则为本质。疫情分析时最常用、最合适之逻辑推理，即“透过现象看本质” 的哲学思维。因而“人群现象”不仅准确地反映了传染病流行时流行病学客观规律，而且隐含着深奥的哲学原理。很遗憾，50 多年来，除个别外，很少有学者应用和关注。

人群现象主要有四种：强度、时间、地区（单位）和人群（性别、年龄、职业等），故谓四特征。最近几十年的文献中，也将“流行过程特征”称 “分布（distribution）”。因为在非传染病和西方国家常将特征称分布。然而，在我国古今描述事物时，却常用“特征”“特点”，极少用“分布”；故可能我国民众对“流行过程特征”更易理解。因此，下述内容中，以“特征”这一术语为主。

在此，笔者需指出，本章对流行过程特征的描述，可能和目前有关专著的层次甚至内容不尽相同。因为从几十年教学、研究和防病实践的积累出发，此种内容安排可能使流行病学实际工作者易于在理论，尤其在理论和实践结合上，掌握两个因素和流行过程理论及其两者之关系，理解其在分析疫情时的作用；也使广大人民群众易于读懂有关内容。

对每种传染病的流行过程特征或人群现象，应该从两个层面加以描述。

第一层面，从总体、国际层面上分析。人类的大多传染病已经过几十年、几百年甚至更长时间的流行，即使新出现的传染病也已经过几年，至少一、二年的爆发流行。人们对于其人群现象和流行规律有了一定的认识。流行病学工作者应熟悉和掌握这些特征，否则将不能了解该传染病流行病学的全貌。

目前,流行病学教科书、专著或讲义,主要叙述这一层面。因而,可能使从事传染病防控实践的流行病学工作者,如疾病控制中心人员,仅掌握某类某种传染病的全球和/或全国的流行特征;当传染病突然爆发和流行需应急处理时,不易着手,不知应收集当时正在该地流行的传染病哪些资料并如何分析。

故应有第二层面,即具体层面,应同时举例某种传染病某次实际流行或爆发时之四个特征,以使读者能在实践中举一反三,准确应对。每种传染病每次流行或爆发,均能在强度、时间、地区和人群四个方面表现出该次具体的或特有的特征(人群现象)。换言之,同类甚至同一种同一型传染病在不同地区,甚至同一地区不同时间,更甚者同一地区同一时间的不同阶段,此四个特征均不同。因为犹如任何事物在不停地运动和发展一样,同种同型传染病之特征在流行中亦不断变化。犹如我国古训:“水无常形,兵无常势”。疫情亦如此!

故流行病学工作者,尤其是从事疾病控制的卫生流行病学工作者,应对这些具体特征进行全面详细而又动态的调查,结合两个因素具体分析,才能解读引起该次流行或爆发的具体的传染源(传染来源)、传播途径和易感人群及其影响因素,进而提出针对性的控制策略和措施;并随时跟踪新情况,进行再分析且追加或改变措施。

对于上述流行过程特征两个层面之间的关系,理论上可理解为哲学事物的普遍性和特殊性之关系;实际上,可如临床医学某病的症状、体征、实验室与影像等普遍特征和患该病某位患者的具体特征之间的关系去思考。

现以非典为例说明。SARS 从 2002 年 11 月 16 日出现后,其流行特点如下。

(一)第一层面

第一层面即为总体的流行特征,如下。

1. 强度特征　不同的国家与地区不同。有些国家仅有输入性病例;有些国家或地区可爆发流行,甚至较大规模的爆发流行,罹患率(attack rate)可达 10/10 万以上,如我国香港为 25.6/10 万,我国台湾为 23.1/10 万,北京为 19.6/10 万;但加拿大的多伦多为 5.1/10 万。

病死率亦然:加拿大和我国香港均达 17%(43/251,299/1755),而我国台湾和大陆分别为 11% 和 7%;菲律宾和新加坡则介于两者中间,均为 14%(2/14,33/238);而相反:美国为 0%(0/29)。从上述强度特征可见,在全球各国不平衡:发病主要集中在我国和东南亚,即使在北美两国之间也很不平衡。由此,我们结合其他特征和两因素,可以分析其三个环节。

2. 地区特征　呈世界性流行。2003 年春季的流行,波及全世界 29 个国家或地区,包括亚洲、美洲、欧洲,但我国及其周围地区呈高发。在我国国内,以广东、香港、台湾、北京及其周围省市高发。

同一地区,以医院发病多。因为 SARS 极易引起医院感染。

地区特征提示：与最先发现的地区交往频繁的省市易于引入病例，并引起续发或爆发；人口密度高、流动人口多、对外交往多的地区发病高。

在此，应强调一点，应引起国内外学者和公众高度关注，即下述地区特征或现象尚难解释：加拿大和美国在地理位置、气候条件、社会制度、经济水平、交通运输、人口流动和医疗卫生体系与资源设备等方面均差异不大，且非典第1个病例输入和流行终止时间几近相同：加拿大第1个病例输入和流行终止日期分别为2003年2月23日和2003年6月12日；而美国则为2003年2月24日和2003年7月13日。但两国之间的罹患率非常悬殊：加拿大多伦多的罹患率为5.1/10万，全国发病数为251例；而美国发病数仅为29例，但美国的总人口数远高于加拿大，故其罹患率应远低于后者。两国之间病死率的比例更为悬殊：加拿大为17%（43/251），而美国为0%（0/29）。由于迄今，笔者虽几经努力，但仍无法获取两国在非典流行期间两因素的详细资料，尤其是民族和种族之数据，故尚未能分析出确切原因。然而，可以肯定两国之间有某种（些）尚未知晓的差异因素影响着非典流行。

从地区特征，我们更可以“透过现象看本质”，对SARS传染来源和传播途径做某些推理。

3. 时间特征 呼吸道传染病常呈冬春季，尤其春季高发。首例SARS于2002年11月16日在广东突然出现，然后引起广州市及其西部和南部市县地区爆发；2003年2月中下旬至3月上旬，则在更大范围内发生流行，南至香港，北至北京和山西、天津等北京周边地区；此后又扩及世界几大洲。但2003年6月至7月上旬各国流行突然迅速下降直至终止。

令人奇怪，除当年9月、12月分别在新加坡和我国台湾各发生1例实验室感染外，直至2003年12月至2004年1月，仅在广州市出现小爆发，发生4例轻型病例，且无续发。此后，2004年3月至4月北京发生一起实验室感染所致爆发（包括安徽续发病例），患者病情严重，亡一例；且有续发，存在超级传播者。此起实验室感染临床和流行病学特点，与2个月之前广州小爆发完全不同，但却和2003年上半年之流行十分类似。差异之主要原因：致实验室感染之病毒为贮存的2003年上半年分离株，其刚发生或尚未逆向进化；广州小爆发的则基本完成逆向进化，即将离开人类。

此种时间特征，即流行一年后除实验室感染外，在人群中再无病例，在人类传染病流行史上，史无前例；由此，可以反映非典三环节之特殊性，反映非典病毒起源非同一般！

4. 人群特征 不少国家报告均表明，医务人员高发，低年龄组的发病少。现以我国大陆的结果为例。

（1）性别：男女之间发病无明显差异。

（2）年龄：各年龄组之间差异十分明显：①青壮年发病高，可靠的统计资料表明，30～39岁组罹患率（发病率）最高，可能其接触机会多，在第一线之医务人员亦可能在此年龄范围；②老年人群也不低：70岁以上老人与30～39岁组的罹患率相差不多；③最令人意外的为：

0～9 岁组罹患率最低，<0.25/100 万，10～19 岁组也不高。

此种年龄特征非常特殊。传染病发病多见于儿童，因为大部分传染病病后有牢固的免疫力；有少数，如流行性出血热、钩端螺旋体病等自然疫源性疾病，因接触机会可在青壮年好发。但在各种急性传染病，老年人群发病均低；因为虽某些传染病病后免疫力不强可多次感染，但可经多次累积或交叉免疫具一定特异性免疫力。

故非典此种年龄特征主要的原因，可能和人 H7N9 禽流感相似，即表明非典三环节之特殊性，传染来源异常：此种非典病毒及其亲缘病毒从未在我国人群内流行过，是全新之病毒。可见，此种年龄特征也在一定程度上支持"人制人病毒"之论据。

(3)职业：以医护人员和离退休人员的罹患率高。医护人员的罹患率最高，为普通人群的 42.8 倍，为农民的 230 多倍。其原因很易理解：其一，医务人员接触传染源的概率远高于其他人群；其二，空气飞沫传播极易实现，室内的病毒量又高，预防相当困难；其三，流行中存在超级传播者，而后者常在住院患者中出现。

离退休人员的罹患率高，可能是由于年龄特征之故。

(二)第二层面

第二层面，具体一次爆发或流行的流行过程特征，现以"某医院住院患者的一次 SARS 爆发"为例。

1. 强度和人群特征 当时住院患者中，确诊非典 10 人。其中男性 8 名，女性 2 名，年龄 33～75 岁，平均 58.7 岁(表 1-3)。

表 1-3 某医院非典爆发病例的基本情况

序号	性别	年龄	楼层	病室	发病日期	住院日期	出(转)院日期
1*	女	33	7	4	2 月 22 日	3 月 3 日	3 月 5 日
2	女	56	7	4	2 月 26 日	3 月 4 日	3 月 5 日
3	男	59	8	4	3 月 8 日	3 月 3 日	3 月 15 日
4*	男	74	12	6	3 月 8 日	3 月 4 日	3 月 17 日
5	男	66	13	5	3 月 13 日	3 月 7 日	3 月 20 日
6	男	75	13	5	3 月 14 日	2 月 24 日	3 月 21 日
7	男	50	12	6	3 月 18 日	3 月 11 日	3 月 20 日
8	男	42	8	4	3 月 21 日	3 月 7 日	3 月 28 日
9	男	64	14	9	3 月 23 日	1 月 21 日	3 月 28 日
10	男	68	14	5	3 月 24 日	3 月 6 日	3 月 28 日

* 指示病例：指引起此次爆发之病例(传染来源)

首发病例为指示病例①，于 2003 年 2 月 18 日赴非典疫区广州办事，22 日出现发热等症状，23 日返回原籍山西后 3 月 1 日赴北京就诊，3 日即住院，后诊为非典于 5 日转定点医院。

病例②为病例①母亲，受病例①传染后于2月26日发病，3月4日住院。病例④入院前有医院就诊史，虽未发现有非典患者的具体接触史，但从住院第5日即发病，结合非典常见潜伏期为5~7天和入院前他去过其他医院，推断他很可能入院前即受染。

2. 时间特征 首例发病时间如上，最后1例为3月24日，历时30天。将表1-3的患者发病时间资料，按比较常见的最长潜伏期(10天)为间隔，稍作整理，成表1-4。由此表可见，患者发病主要(8/10)集中在后20天，在时间上呈一定聚集性。提示，患者间可能存在传播关系，可能为一次爆发。

表1-4 10名非典患者发病日期分布

发病日期(月-日)	患者数
2-23~	2
3-5~	4
3-15~3-24	4

3. 地区(病室)特征 某医院的住院大楼为东、中、西三单元14层建筑结构，10名患者分布在西单元7、8、12、13、14五个楼层的6个病室(图1-7)。除病例⑨、病例⑩各单独发生在1个病室外，8名患者呈4对分布在4个病室。此又提示，病例在地区上亦呈聚集性，支持爆发的可能性。

从图1-7可见，病例分布在上述五个楼层的四(五)、五(六)两个病室或六(七)、八(九)两个病室。因此，请注意，由于病区管理的病室安排，13层、14层和12层及以下错过一个房间，即实际上，13层、14层的五、六、七、九病室分别和12层及以下四、五，六、八病室在一根垂直线上。

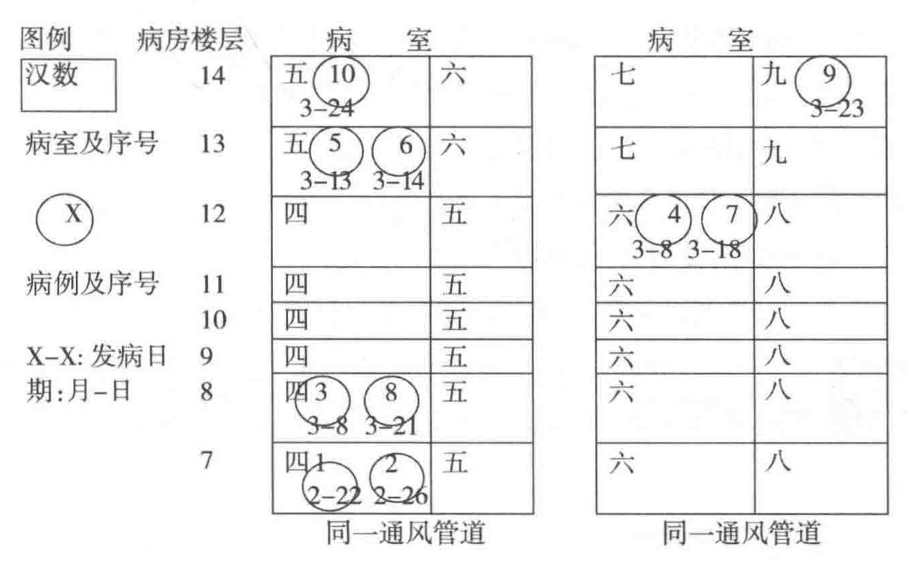


图1-7 某医院非典爆发病例的病室和发病日期分布

从病室特征发现:①10 名患者均分布在西单元,故比较局限,可排除因医务人员或非典病例来往引起之传播。②由于患者仅局限在 5 个楼层 6 个病室,且医务人员未受染,故可排除由电梯内人员往来所致。③若结合发病时间分析,除病例⑧外,楼上层病例的发病日期均晚于下层(图 1-7),提示楼上层的病例可能由下层传播。④再结合两因素之调查发现,10 名患者的 6 个病室卫生间分别处于两个通风管道:四(五)、五(六)两个病室和六(七)、八(九)病室实际分别各处同一通风管道,如上述,由于病区安排(图 1-7),进一步实地调查知晓,通风管道白天均进行机械抽风,故利于经通风管道实现有限的空气(尘埃或气溶胶)传播。⑤由此,可判定此爆发主要为通风管道有限的空气传播引起;但病例⑦与⑧,很可能分别经和同病室病例③与④非常密切接触受染,两两间的发病时间间隔和非典潜伏期基本吻合。

传播途径如此,即可追踪传染来源,确定为上述 2 例指示病例①与④,其均在爆发病例楼层之最低处,和上述流行特征和两因素之情况吻合。

在此指出:①从案例分析可见,透过人群现象(流行特征)和两因素,分析传染源、传播途径和易感人群之三环节本质,应是卫生防病工作者牢牢记住的策略思维;②一个重要的学术发现,既往国内外和 WHO 文献与媒体中,非典传播途径均仅局限于飞沫传播。通过此案例,可证明,非典存在空气传播,这是我国学者在国际上首次发现;其对非典防控无疑有重要意义。此后,WHO 文件和香港学者发表的论文,也证实在一定条件下可空气传播。

二、流行过程的内在联系

为使读者对整个流行过程及其内在联系有充分而又扼要的理解,故特别增写“流行过程的内在联系”这段内容,主要以 3 个图作为本章之总结;肯定有重复之处,但不仅可加深印象,且非常必要,为画龙点睛。因为掌握了“流行过程的内在联系”,等于掌握了流行过程之精髓,等于获得了开启传染病流行“防控大门”的金钥匙。这是笔者几十年积累之感悟;当然,仅是一孔之见,权当抛砖引玉,为祖国和人类健康铺路。

从上述可见,人群中传染病的流行是由于传染源、传播途径和易感人群三环节,经两因素的影响,相互建立联系;流行时,人群可表现出四特征。

然而,进行流行病学调查研究时,不能直接发现传染源、传播途径和易感人群,只能收集到四特征和两因素的资料。因此,三环节是流行过程的核心或本质,四特征是外壳或现象(图 1-8)。为此,三环节、两因素和四特征之间具非常密切、逻辑性极强的关系,可用图(图 1-9)示意。



图 1-8 流行过程及其特征产生过程

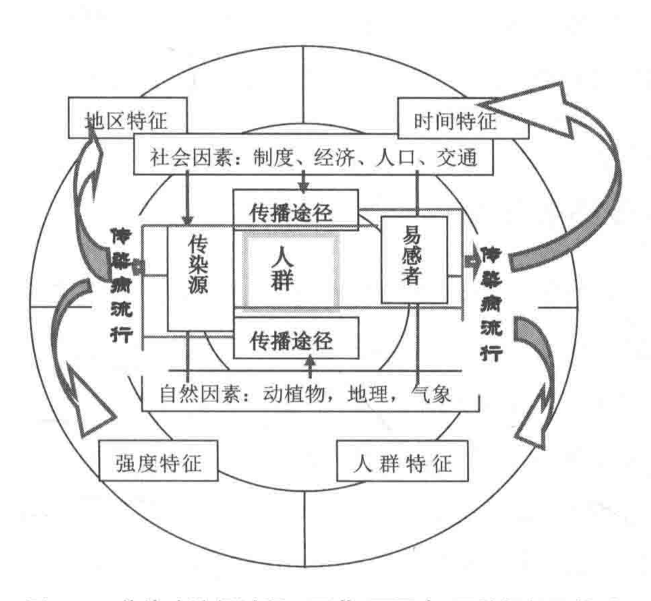


图 1-9 传染病流行过程三环节、两因素、四特征相互关系

由此，当传染病流行时，欲进行疫情分析，寻找传染源、传播途径并确定易感人群，首先必须收集（实际上也仅能收集到）四特征和两因素的数据，然后通过“透过现象看本质”，分析三个环节（图 1-10），并提出打破三个环节的措施，控制流行。

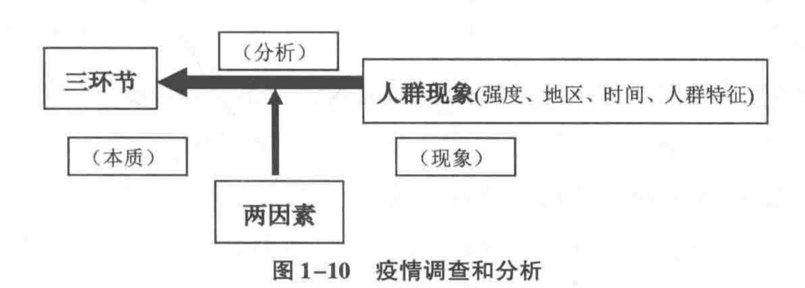


图 1-10 疫情调查和分析

第四节 非典等人类新发传染病之分类和出现的原因

新发传染病（Emerging infectious diseases，EID）和人类新发传染病（Emerging human infectious diseases，EHID），已经在国际上广泛应用 20 多年，但提出的定义、概念和解释较多，

不尽一致。笔者认为,任何定义均是相对的,对众人一见即能理解、且不影响研究之可靠性者,不必非加严格的定义。新发传染病,在我国即可顾名思义:新出现的传染病。

相反,对其出现之原因和应对策略,应加以仔细和全面的研究,因有关人类健康和全球安全,丝毫不能忽视!欲论及新发传染病之起源,必须先加以分类。欲加以分类,先应正其名。由于目前,由动物病毒进化跨越物种障碍致人类发病者日益增多,且随高科技发展出现非自然进化之人类病毒,故笔者认为,文献中多用的"新发传染病",实际即指"人类新发传染病";若非人类"新发传染病",应在此术语之前,必须确切地冠以"非人类"或"动物",以适应今后之发展。

一、人类新发传染病分类

目前,文献中人类新发传染病分类的方法很多,主要以病出现的年代或病原体的种类两种。然而,目前生物恐怖主义十分活跃;这些恐怖分子利用其掌握的不断翻新之生物技术及其动物试验,使生物武器尤其基因武器超现代化,甚至以非常隐蔽之方式施放,引起新发传染病的人间流行。所以,按本书的宗旨和目前新发传染病的流行态势,结合易于认别、利于采取针对性措施和面向未来之分类原则,笔者根据人类新发传染病流行病学特点,按起源、贮存宿主或传播途径将其分成两大类:"自然进化型"和"基因武器型"。

1. 自然进化型人类新发传染病(Emerging human infectious diseases by natural evolution pathogen,EHID-bNEP) 由动物病原体,在自然界中经非常漫长持续的适应性进化,不断跨越一系列种间屏障,正在或部分或基本甚至完全适应于人群所致流行的新传染病。由于目前除个别例外,人类新发传染病均属于此类,故日常使用,可简称"人类新发传染病",甚至"新发传染病"。

2. 基因武器型人类新发传染病(Emerging human infectious diseases by genetic weapon,EHID-bGW) 非自然起源,以基因改造技术和动物群体传代适应试验等方法,将动物病原体制成人类新品种病原体战剂所致新传染病。由于这类人制人类新品种病原体,目前不可能将其用于其他目的,唯应用于恐怖行动,因此,即命名其为基因武器型人制人类病原体,其引发的传染病,即为基因武器型新发传染病。对于"基因武器型人类新发传染病",因目前极为个别,在文章中不应简写,必须全称。

目前这类病之病原体研制,主要应用以基因改造技术和/或与人类近亲或细胞受体十分相似的动物群体传代适应试验,将鸟禽和哺乳动物为贮存宿主的动物病毒,改造为人类新品种病毒;然后再以多种方法和手段,使后者能在人群短期流行或在某一特定地域长期流行,因而产生"基因武器型人类新发传染病"。

由此,从基因武器发展趋势和相应的传染病流行病学理论,结合现有动物病毒的改造过

程及其施放结局,同时按其战剂性质,“基因武器型人类新发传染病”目前至少又可分为两种(亚)类型,即“过客型”(passenger type)和“生态型”(ecology type)[参见本书第四章]。

(1)过客型基因武器型人类新发传染病[emerging human infectious diseases by genetic weapon(passenger type),EHID-bGWpt]:将动物病毒以基因技术改造和动物群体传代适应等试验后,研制成自然界无贮存宿主的人类新品种病原体战剂所致新传染病。故仅能引起一次性流行,如过客病毒(passenger virus,见下)SARS-CoV 引起“过客型”传染病 SARS。

(2)生态型基因武器型人类新发传染病[emerging human infectious diseases by genetic weapon(ecology type),EHID-bGWet]:指针对靶目标区域某种动物作为或改造成贮存宿主,将动物病毒以相应的基因技术改造和动物群体传代适应等试验后,研制成自然界具贮存宿主的人类新品种病原体战剂所致新传染病。若用一个时髦词,其可能为“过客型”之“升级版”。

因为 SARS-CoV 之所以成为过客型,原因肯定不少,但主要可能由于其研制时间短或设计不严密,或对传染病流行病学相关理论掌握不到位,技术不成熟,在动物群体传代适应试验时未考虑或未关注到病原体世代流行需要“贮存宿主”这一关键点。因此,非典过后,恐怖主义者已经醒悟,设法找到施放靶目标区之相应“贮存宿主”或将某种动物改造成贮存宿主,改善和补充了原有设计和步骤,研制成具“贮存宿主”的人类新品种病原体并成为战剂:人制人新种病毒生态型基因战剂(ecological genetic agent of artificial new species of human virus),指将有限的空气传播新种病毒株在雪貂之类群体和战剂贮存宿主群体之间,进行传代-适应-世代循环试验,直至其完全适应于战剂贮存宿主,即能在后者群体内生长、繁殖、传播、流行,世代往复;然后将其武器化。可简称,生态型基因武器战剂。后者可致“生态型基因武器型人类新发传染病”,并使之在适宜于此贮存宿主生存之景观内长期地反复地流行,而在此类新品种病原体完全适应于人类之前,仅局限于该靶目标地区流行。所以,“生态型”较“过客型”更加能满足恐怖主义者之战术目标。

(一)自然进化型人类新发传染病

目前主要有两类:第一类,主要经血或消化道、呼吸道传播的传染病;第二类,主要以鸟禽和哺乳动物为贮存宿主的传染病。

1. 经血或消化道、呼吸道传播的传染病 其流行病学和临床重要特点为:①出现或发现的年代较早,除个别外,大部分在 20 世纪中下叶。②对人类适应好或较好,贮存宿主基本是人类。③经血和消化道传播的成年人多发,可能和接触机会有关,而呼吸道传播的好发于儿童和青年,可能和累积或交叉的特异性免疫力有关。④经血传播的传染病可经性和宫内传播。⑤经血传播的疾病大多病程长、易慢性化;而消化道、呼吸道传播的均为急性病程,尚未见慢性患者。

属此类疾病经血传播的,如艾滋病、乙型病毒性肝炎(此病早在人类长期流行,但病原体在

20 世纪 60 年代才发现)、丁型病毒性肝炎、丙型病毒性肝炎、未定型病毒性肝炎等;经消化道传播的,如戊型病毒性肝炎等;经呼吸道传播的,如 2009 年出现的甲型新 H1N1 流感等。

2. 以鸟禽和哺乳动物为贮存宿主的传染病 此类新发传染病比较复杂,数量亦多。目前重要的为两种类型:以野鸟(禽)为贮存宿主的人禽流感和以蝙蝠为贮存宿主的各种病毒性疾病。

其流行病学和临床重要特点为:①可能其需跨越多类复杂的种间屏障,故出现或发现的年代较晚,除少数外,大部分在 20 世纪末和 21 世纪;②对人类适应不好,贮存宿主基本是动物,人类在少数甚至个别疾病可作为传染源,但大多仅在特殊情况或有限的人-人传播时具传染源作用;③大多经呼吸道传播或昆虫媒介传播,相当一部分可经血传播;④多发于青壮年和儿童,可能和接触机会与交叉或累积型特异性免疫力(见上)两者有关;⑤大多病情重,病死率高,可达 30% ~50% 甚至更高。

此类疾病病种繁多。以野鸟(禽)为贮存宿主的经典疾病,是 20 世纪末至 2012 年出现的多种人高致病性禽流感,以人 H5N1 禽流感爆发频繁、发病数量最多、危害最甚。

以蝙蝠为贮存宿主的疾病,称著者为亨尼帕病毒属(genus Henipavirus)的亨德拉病毒(Hendra virus,HV)和尼巴病毒(Nipah virus,NV)所致两种疾病,20 世纪 90 年代发生以来至今,发病区域逐次扩大,间断或不间断地在澳大利亚、南亚和东南亚地区呈现小规模爆发和流行。更有甚者,已如前述,2012 年春出现的中东呼吸综合征之传染源甚至贮存宿主,可能即为当地骆驼和蝙蝠。

上述两类自然进化型人类新发传染病,在国内外各种文献,均已从各种不同角度加以描述。

然而,随着科技发展、社会动荡、竞争加剧和霸权扩张,某些新发传染病的起源、产生和流行呈现前所未有的局面,甚至残酷的情景。因此,为了世界公共卫生安全和人类的未来,笔者不得不在人类传染病史和新发传染病领域内,首次提出并加以命名"基因武器型"人类新发传染病(参见上述和本书第四章)。对此,可能令人难以理解,事实上笔者也以颤抖着的手边写、边考虑"人类为何能步入自制病原体残害另一部分人群呢?是人类社会发展之必然吗?";但又不得不写,唯能以此呼吁有关学者和公众之警惕,预防和应对生物恐怖主义者造成的"基因武器型人类新发传染病"。

(二)基因武器型人类新发传染病

目前可在学术上加以证实的仅一种病毒病:非典。然而,另一种,即 2013 年在我国发生的人 H7N9 禽流感尚待排除,即尚不能除外人 H7N9 禽流感为"生态型基因武器型人类新发传染病(参见本书第四章)"。

1. 过客型基因武器型人类新发传染病 非典应为典型的此类新发传染病。目前可在流行病学、分子病毒学和分子系统发育上证实为非自然起源新发传染病。此病在本章有关

内容中虽已多次提及,现再以基因武器型新发传染病的视角,进行扼要的学术论证。

(1)非典流行过程和其他传染病完全反常:如同宇宙和自然界任一自然进化的事物,必须遵循该种类的共同发展规律;新出现的非典,虽可和人冠状病毒病在流行病学、临床和分子病毒学有差异,甚至显著差异;但不能迥然不同,更不能完全反常。而非典之流行病学表现,不仅和人冠状病毒病反常,也和人类病毒病反常,甚至和有史以来至今的人类传染病反常,因为迄今尚无任一人类传染病(均为自然进化所致)流行一年后即无影无踪、再无病例和感染出现;因为迄今尚无任一种人类传染病未见直接祖先、未见贮存宿主,故非典病毒,必然为非自然进化起源无疑。

(2)SARS-CoV 过短的进化时间不符合自然进化的历程:国内外许多学者的研究表明,SARS-CoV 最早祖先 Bt-SLCoV(Rp3 株)的"共同祖先时间(tMRCA)",约距 SARS 爆发 4.5 年,即 1998 年前后;也即从 Bt-SLCoV(Rp3 株)进化至 SARS-CoV 仅约 4 年多。而这 4 年多之时间间隔,在生物进化历史年代中极短,仅为其一瞬间。在人类病毒病的自然进化历史中,亦然。以引起艾滋病(AIDS)的人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus,HIV)为例,其最早的祖先病毒为猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus,SIV),虽在其宿主内进化速度相当快,但其传入并适应于 HIV-1 的贮存宿主黑猩猩(chimpanzees),成为后者携带的 SIV(SIVcpz),经历几百年,SIVcpz 的最近共同祖先时间为 1492(1266—1685)年,然后又经几百年适应性进化,才以 HIV-1 的形式于 1921—1963 年分多次传入人群。因此,相比较,SARS-CoV 这 4 年多之进化时间不可能发生在自然界,唯可能出现在人工设置场所内,应用人工技术,如基因技术改造之后、再在近似人类的实验动物或人类亲缘很近动物内进行快速传代和适应试验。

(3)SARS-CoV 发生了明显、快速、不间断之"逆向进化":自其进入人群后,即处于不适应之压力下。首先,丢失了"特征性 29-nt 序列:CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT(nt. 27869-27897)",后者处在 SARS-CoV 独特的附属基因(the accessory genes unique to the SARS-CoV),即 ORF8 上。迄今仅发现在流行最早期约 5 例广东病例中分离到 29-nt 序列之毒株,即非典流行的大部分时间、绝大部分病例毒株均缺失"29-nt 序列"。研究证实,ORF8 表达之蛋白在细胞内可能参与调节 SARS-CoV 的复制,并和致病力、动物种间跨越、对人的适应性有关,故 29-nt 缺失将严重影响这些功能。

继之,SARS-CoV 受体结合位点重要氨基酸(AA)发生变异,学者们普遍认为,这些 AA 和 SARS-CoV 传播力与毒力密切相关;因为其为与人或果子狸受体-血管紧张素转化酶 2(ACE2)之结合位点。而这些变异正是"逆向进化",这些 AA 之类型逐渐回归,并最后和流行最早期果子狸毒株完全相同,因而,其传播力与毒力明显减弱,发病轻、无续发,和 2002—2003 年人群流行的流行病学和临床表现大相径庭。

SARS-CoV"逆向进化"另一证据,为 SUD 出现终止码。SUD(SARS-CoV unique do-

main)是 ORF1a 基因 nsp3 区独特的 CDS(coding sequence),仅存在于 SARS-CoV 和某些蝠的高度相关病毒(the highly related viruses in certain bats)内,其他任何冠状病毒均无。其可能参与调节病毒复制或抵抗受感染的宿主免疫反应。而在2003 年12 月至2004 年1 月广州爆发病例的 SARS-CoV 中 ORF 1a 基因 nt.6295 突变,导致 SUD 出现一个终止密码子,由此,也促使其传播力与毒力显著降低。

(4)*SARS-CoV 逆向进化反映其对人类非常不适应*:按逆向进化理论,其出现的直接原因,主要为生物生存景观或环境发生了变化。如:①若一个群体迁入一种新环境时间很短,其易保持祖先环境产生的永久遗传变异;②借逆向进化返回祖先状态时,选择现有基因型中有利于祖先环境变异的频率将增加;③在新环境中,新的选择变异株少,反映其新的选择性条件差,有利于逆向进化。

而这些正是 SARS-CoV 所遇到的:①因为离祖先病毒株仅约 4 年多时间,故 SARS-CoV 产生后,不可能在进入人群前在人类亲缘关系很近的动物群体内做长期、完全的适应试验,故人是其非常陌生之新宿主。②同理,SARS-CoV 产生后,迅即进入一个全新之环境,故易保持祖先环境产生的永久遗传变异。③在新宿主中,SARS-CoV 新的选择性条件差,因为其不同于其他 RNA 病毒,流行中未见新的亚型出现;相反,阳性逆择压不断降低(具体资料未列),表明其为“逆向进化”创造了有利条件,选择其基因中有利于祖先环境(蝠)的变异。

由此,SARS-CoV 进入人群后,出现了一系列的逆向进化;一年后毒力和传播力非常明显下降,不久即在人类和自然界消失。实际上,这也是其最好的结局。因此,我们认为,SARS-CoV 只能经“非自然”的方式产生。对其起源和进化路线,我们假设如下:蝠 Bt-SLCoV(亲代 3)——非自然进化(unnatural evolution)“UE-SLCoV1(非自然进化-SARS 样冠状病毒 1)株”(亲代 2)——UE-SLCoV2 株(亲代 1)——2002—2003 年果子狸 SARS-CoV 株——2002—2003 年人 SARS-CoV 株——2003—2004 年果子狸 SARS-CoV 株——2003—2004 年人 SARS-CoV 株——?? ——?? ——消失。

由于 SARS-CoV 似人类病毒病历史上的匆匆过客,故笔者将其谓之“过客病毒(passenger virus)”,即由非自然进化技术,将动物病毒改造成致人发病、并因完全不适应于人类且无贮存宿主,经一次(间断)流行后即在自然界和人群中消失之病毒。

同时,从我国国防安全和军队保障以及当前国际各种恐怖主义猖獗活动态势之综合考虑,SARS-CoV 很可能甚至即为最新型的基因武器,甚言之:划时代之基因武器。因为,在此前,基因武器均为原有病原体之武器化;而 SARS-CoV 是由动物病毒经人工改造成人类新品种病毒再武器化,并以前所未有之方式施放。笔者将这史无前例的基因武器类型,按其起源称为“人制人病毒基因武器(man-made human virus genetic weapon)”,即应用基因技术结合群体适应试验,将动物病毒改造使之致人发病并武器化施放于靶人群(见本书第四章)。

在此,必须引用下述一段文字,是笔者 2013 年 11 月 26 日寻查文献时才发现,感到其非

常重要、意义极大,就 SARS 对全球的巨大、深刻而长远影响进行了准确之评估;并且可和我们将"SARS-CoV 很可能甚至即为最新型的基因武器"的判断互相补充、共同支撑:"作为一种新的、致死性以及起初知之甚少的疾病,严重急性呼吸道综合征引发的一定程度的公共焦虑事实上造成向疫区的交通终止,而且在整个区域内造成了数十亿美元的经济损失。该病挑战了对新发疾病和易流行疾病相关风险的公共和政治理解,并且将公共卫生整体水平提高到了一个新高度。并非所有国家都感觉到了未来生物恐怖主义的威胁,但是所有国家都关心类似严重急性呼吸道综合征的疾病的来临。"[世界卫生组织(WHO):2007 年世界卫生报告:构建安全未来--21 世纪全球公共卫生安全http://www.who.int/whr/2007/07_overview_ch.pdf]

从中,明眼人一看便知其虽语句不多,但字字千金、含意深邃、用心良苦:①WHO 和国际有识之士已将"严重急性呼吸道综合征(非典)" 和"生物恐怖主义"联系在一起:在短短一段专门叙述非典对世界影响的内容中,先论及"经济损失",继之"挑战了……政治理解",最后提出"生物恐怖主义的威胁"!②此番论述,是在"构建安全未来——21 世纪全球公共卫生安全" 之题目下写的,可见,时间上为整 100 年!认识高度上为全球安全!③明确指出,"并非所有国家都" 认识到此种"生物恐怖主义的威胁"!仅语气视之,已到呐喊之程度!!很遗憾,作为受害最重国家之公民、作为一名防控传染病的流行病学工作者、作为一名非典起源之研究者,迟至这篇报告发表 5 年后才读到此金光闪闪之文字,十分惭愧,非常内疚。因此,将其作为讨论"非典为最新型的基因武器"之结语,并同时放至卷首的"重要文字摘录"内。

人类新发传染病流行的最新进展又给"非典为最新型的基因武器"之判断,提供了有力佐证,早至 2013 年初,有多名学者或好友或学生陆续向我提出若非典为非自然起源,如何解释"中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)"所致"中东 SARS"之流行,当时答:从其初步流行特征,如发病少,传播力弱,地区局限,病死率高等视之,其和非典有别;但其起源尚需观察。现在已如前述,2013 年 11 月报告的最新证据表明,在 2012 年 10 月沙特 Bisha 发生中东 SARS 指示病例之当时当地收集的 Taphozous perforates 蝠内分离的 MERS-CoV,和该病例病毒(human β-CoV 2c EMC/2012)保守区之基因序列呈 100% 同源性。因此,此文作者推测,中东 SARS 的传染源很可能为蝙蝠。笔者则依此进一步引申:①不能除外蝙蝠为中东 SARS 的传染源甚至贮存宿主;②可以判定,中东 SARS 之病原体 MERS-CoV 为自然进化所致;③中东可能为中东 SARS 的自然疫源地。

值得欣喜,从上述中东 SARS 和非典之间比较,可更进一步证明:"基因武器型"和"自然进化型"两类新发传染病的流行特征具明显差异,故卫生流行病学工作者可借此进行鉴别,利于早期防控、减少伤害。当然,我们团队也正在进行此项目之深入研究。

2. 生态型基因武器型人类新发传染病 从目前已有的流行病学证据,不能排除人 H7N9 禽流感为此类新发传染病。且随着流行继续,已有并将出现更多之学术资料支持此点。

人感染 H7N9 禽流感(human infection with influenza A H7N9 virus,人 H7N9 禽流感),由人(新)H7N9 禽流感病毒[h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV(动物或环境内)]引起、经飞沫传播、以严重呼吸道症状为主的急性新发传染病。

第一例于 2013 年 2 月 19 日我国上海出现;随后,在长三角地区流行,安徽、江苏和浙江开始散发,继之多个相邻省份卷入。至 11 月 6 日,WHO 共收到上报实验室确诊病例 139 名(含台湾输入性 1 例)(图 1-11),其中 45 例亡(32.4%)。

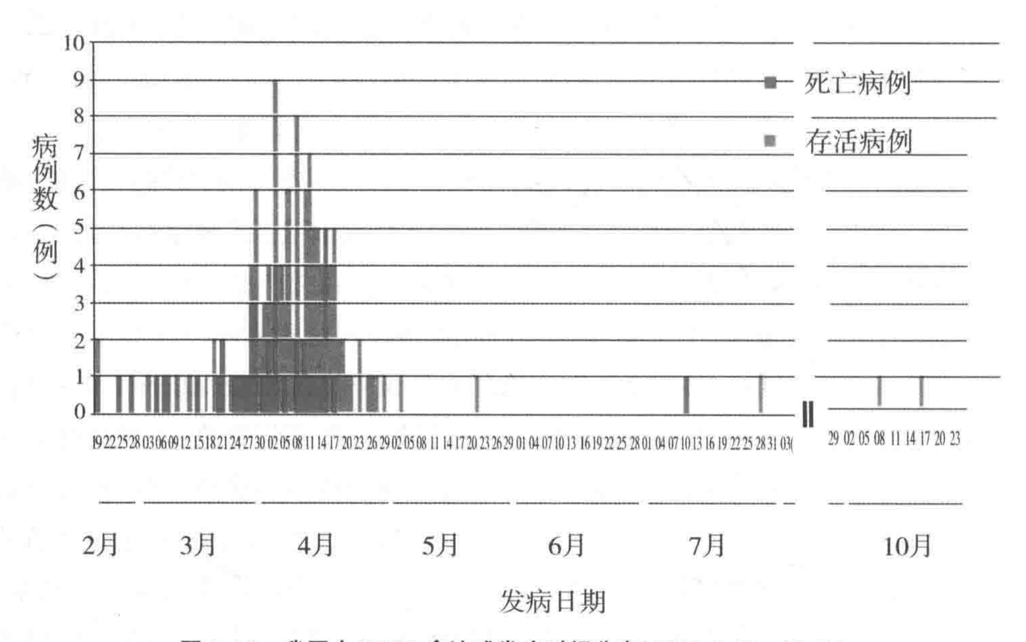


图 1-11　我国人 H7N9 禽流感发病时间分布(2013.2.19—10.25)

[引自 WHO:Report 10-data in WHO/HQ as of 25 October 2013,08:00 GMT+1]

然而,人 H7N9 禽流感的流行病学特征和以往的各种人禽流感截然不同,即呈现人禽流感流行病学的反常;甚至与人类急性传染病相关规律格格不入。虽上述已论及其某些特点,但在此仍强调如下。

(1)人 H7N9 禽流感的流行不应发生在中国:既往各种人禽流感发生流行之前,该型禽流感已在该地区之野禽和/或家禽内流行多年:如人 H5N1 禽流感 1997 年首次在香港流行前一年,已在广东养殖鹅中分禽到高致病性 H5N1 AIV;2003 年又在香港和我国大陆再次爆发,后逐渐传至东南亚。而印尼人 H5N1 禽流感之流行过程更为典型:于 2003 年家禽内首次检出 H5N1 AIV,后不断在各省家禽内爆发,而首例人 H5N1 禽流感直至 2005 年 7 月才出现。H7 型 AIV 的流行自然史亦然。

换言之,各种人禽流感绝不发生在流行之前野禽和(或)家禽内未见该型禽流感病毒流行之地区或国家。中国禽流感流行疫情,多年来颇受国际组织和各国的关注;因而我国各级政府和有关专家尽其所能,非常密切监测疫情和病原学发展趋势。此在国际上有目共睹。

但是,在这次人 H7N9 禽流感流行前,虽在包括韩国与蒙古在内的周边国家和欧亚美野禽中均检出 H7N9 AIV,而中国始终未出现。因此,首次出现人 H7N9 禽流感流行的国家应在上述诸国,但是,事实却相反,2013 年春突然在我国长三角发生流行,显然违反了人禽流感病毒产生及其所致流行之自然史。

更有甚者,流行之后,能作为人 H7N9 禽流感传染源之家禽分布,也非常局限:仅在少数活禽市场家禽与环境及鸽(而鸽传人尚未见流行病学证据)中发现;又和以往人禽流感流行史不同。

浙江省卫生厅 2013 年 12 月 6 日通报,先后确诊 2 例人 H7N9 禽流感患者:张某,男,57 岁;虞某,男,30 岁。媒体透露:①张某 20 日发病,家养6 只鸡,疑为传染源;虞某,张某的女婿,11 月29 日发病。②省 CDC 某所负责人指出,两人未一起居住,但前者发病时,后者曾陪护,不排除人传人之可能。若上述事实确切并能确认张某发病前一个最长潜伏期内未接触其他活禽或传染源;而虞某受染日期,可根据流行病学理论推测约为 11 月 25 日。若果如此,不仅不能推翻上述关于该病和以往人禽流感流行自然史不符之结论,而且值得流行病学和分子病毒学专家密切观察与综合分析:此次流行可能进入了第 2 阶段:①流行病学上初步判断,家养鸡作为传染源之可能性,当然此尚属首次报告,但尚需更深入的调查研究和病毒学证据(能否成为贮存宿主,尚需追踪一定时期);传播途径:有限的人传人进一步扩大,仍有待更深入的调查研究和病毒学证据。②分子病毒学上,其毒株可能已出现相应之变异,尚需分子病毒学证据。由于资料来源所限,在此,用了许多“若”、“推测”和“可能”等词语,在学术著作中罕见,但此为特殊情况,疫情发展快,而事关国家安全和人民健康,笔者破例,请读者见谅。透过现象看本质,此种流行病学分布反映了更为重要的问题:h-H7N9 AIV 之起源,可能有其特殊之处。

(2)初步的分子病毒学和系统发育分析研究结果

①h-H7N9 AIV 8 个基因虽已基本查清:HA 来自 H7 型 AIV,NA 自 N9 型,其他6 个基因均自 H9N2 AIV。但除 HA 基因外,其他 7 个基因具体由哪些 AIV 株重配而成,结果不一,尤其非常重要的 NA。我国有些学者认为,NA 可能来自韩国的 A/wild bird/Korea/A14/2011,而日本学者则认为,来自捷克 A/mallard/Czech Republic/13438-29K/2010(H11N9)。前者对其他 6 个基因的结论,均来自 A/brambling/Beijing/16/2012,而后者则认为除 PB2、PA 基因相同外,其他 4 个来自我国其他省份的 H9N2 AIV。尚有其他学者获更为不同之结果。

上述差异反映,不仅 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 基因的来源复杂,而且其进化过程曲折。

②h-H7N9 AIV 并非为传统的高致病性禽流感病毒:笔者谓之“部分高致病性”禽流感病毒。其详细的氨基酸和核苷酸变异,恕不详述;但又表明,h-H7N9 AIV 之特征非同以往众

多的 h-AIV。由此可见，其进化起源必具特殊之处，勿等闲视之。

(3)我国 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 检出状况：已如前述，流行之前，我国从未在野禽、家禽、人或其他动物中检出 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV；流行之后至 4 月底，我国也仅在沪、皖等少数活禽市场禽及其(和患者)周边环境中检出 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV。迄今，即流行后 9 个月才在流行病学上初步发现，家养鸡首次可能成为传染源。如此，其和 h-H5N1 AIV 等流行史完全反常，可判断：我国人 H7N9 禽流感之起源有异常，值得全面深入研究。

最近报告，2013 年 4 ~ 5 月上海在崇明的东平国家森林公园(Chongming Dongping National Forest Park)，从健康树麻雀(tree sparrow)体内分离到 1 株新-H7N9 AIV。此发现将有利于 h-H7N9 AIV 起源之追索；结合有关资料分析，初步提示可能为证实我们之观点开辟了一条新的路径。

综上，目前不仅不能排除 h-H7N9 AI 为非自然起源新发传染病，还不能除外人 H7N9 禽流感为生态型基因武器型人类新发传染病。

二、人类新发传染病出现的原因

从前述第一部分内容可见两个关键点。第一，人类新发传染病的起源、进化和出现的复杂性。第二，此种复杂性是由于：引起传染病流行的社会和自然二因素，即当今的国际社会生态和全球气候条件已发生并将继续发生十分复杂而又非常微妙之变化。

(一)人类新发传染病的自然和一般社会基础

如同人类社会和宇宙的发展，病原体和宿主也在社会和自然环境内不断相互作用中进化和发展：病原体必然持续地在动物界经跨种族之适应性进化，最后进入人群，仅是迟早之事。另一方面，由于医学科学技术的局限性，既往已经实际在人群内存在，但很长时间内无法识别，如丙型病毒性肝炎、未定型病毒性肝炎；HIV 在 1981 发现前，可能已传入人群达 20 多年甚至更长。当然，此种情况将愈来愈少。

在此应说明，对于传染病的发生、流行和起源，实际上，社会和自然两因素影响之间密不可分、互相作用和交叉重叠甚至多层次、多阶段或持续不断的交互-拮抗-叠加等。因此，本段题目将两者同时列入：人类新发传染病的自然和一般社会基础，但“自然”为首，“社会基础”前又冠以“一般”。其含义为：其一，本段内容以自然因素为主；其二，下段内容专门论述“现代社会”之影响，由于笔者感到，“现代社会”出现了自人类社会建立以来前所未有的特点，后者对新发传染病的起源发生史无前例的影响。

1. 自然生态破坏 众所周知，此类状况日益严重。究其原因，除了人类数量急剧增加、

为生存和追求幸福而扩大居住区外，主要为掠夺性、榨取最大利润，不考虑可持续发展和全人类利益的资本主义生产与经营方式所致。

生态破坏，不仅造成气候（见下）和生存环境恶劣外，而且使病原体和/或作为贮存宿主的动物侵入人群，引起人类新发传染病。20 世纪下叶艾滋病等动物病所致新发传染病为典型实例。

2. 全球变暖和气候恶劣 人人均能感受。虽然地球与宇宙发展规律之自然变化和人口数量增加有一定作用，但人类，准确地说一小部分人群为追逐私利所进行的活动难辞其咎。

全球变暖、暴冷暴热、春秋缩短和冬夏接近，不仅对土壤与植被造成损害、大陆面积缩小水源枯竭、海平面升高，而且使野生动物难以生存，使人类免疫力遭受破坏，促进人类新发传染病之产生和传播。各种人禽流感和人新甲型流感之不断显现，与此不无关系。

3. 资源匮乏和污染严重 国际竞争加剧，资本主义为追求最大利润和提高消费水平，在对外扩张、欺凌弱国、过度挖掘和抢掠资源之同时，造成大气、水质和土壤植被严重污染。所以，不仅使世界尤其是发展中国家非传染病发病增加，而且使人类新发传染病趁机而入。

（二）人类新发传染病的现代社会基础

人类社会已经进入生产高度发展、科学高度进步和技术高度先进，西方国家经济水平达到历史最高的时代。因而，许多国家尤其发达国家居民的生活和卫生水准空前提高；已如上述，这些国家常见传染病少发，非传染病的防控水平日益提高；各类疾病（包括基因）诊断技术更加精准，防治措施效果渐趋佳境。

但是，任何事物无不一分为二。人类社会亦出现了许多从未发生的状况和事件。除了前述的全球自然环境之破坏外，贫富两极分化日益加剧，各类凶杀暴力和灾难性事件猛增，与不良习惯、生活富裕相关性疾患突出；尤其震惊和影响世界的是，最近几十年来，主要为各类恐怖分子，企图以多种方式，将原来的动物病原体迅速改造为“人制人病原体”，引起靶人群的流行，达到其不可告人之目的。此类手段，是历史上前所未有的，恶毒之极，残酷之极［参见本书第四章］；然而，又不以善良人们之意志为转移。

目前，将动物病原体改造为“人制人病原体”，从公开发表的文献和流行史可见的，仅限于病毒类。改造的方法，因限于条件，从文献的字里行间，唯能窥见一二，推测有如下 3 种。

1. 应用最新的基因改造技术，将动物病毒和人类病毒进行重组，并在和人类最类似的组织细胞内传代，增强其对与人类近亲的动物致病性，直至可攻击人。

2. 将动物病原体（目前主要为病毒）以各种方式和途径，攻击与人类细胞受体十分相似的或与人类近亲的动物，并做多种多样的许多次传代，最终使之适应在该种动物群体内传播，再通过类似方式部分适应于人群。笔者暂称为“人制人病原体动物群体性适应试验

(adaptive trial among animal groups for artificial human pathogen, ATagAHP)"。

3. 兼用上述2种方法。

此3种方法将在第四章内具体描述。

(徐德忠　张景霞　徐锐)

参考文献

[1] 程天民. 军事预防医学[M]. 第二版. 北京:人民军医出版社,2006:979-1012.

[2] 徐德忠,孙慧敏,谭雅慧. 现在自然界和人群中已不存在非典病毒[J]. 医学争鸣,2013,4(1):22-26.

[3] 徐德忠,张磊,孙慧敏,等. SARS CoV 非自然起源[J]. 医学争鸣,2013,4(4):6-9.

[4] 徐德忠,张景霞,张 磊,等. 逆向进化:SARS CoV 非自然起源之关键[J]. 医学争鸣,2014,5(1):1-6.

[5] Lo MK, Lowe L, Hummel KB, et al. Characterization of Nipah virus from outbreaks in Bangladesh, 2008-2010[J]. Emerg Infect Dis, 2012, 18(2):248-255.

[6] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003(revised 26 September 2003). http://www.who.int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index.html.

[7] 徐德忠,张扬,王波,等. 人感染 H7N9 禽流感分布异常及其异常起源之可能[J]. 中华疾病控制杂志,2013,17(8):645-650.

[8] Al-Ahdal MN, Al-Qahtani AA, Rubino S. Coronavirus respiratory illness in Saudi Arabia[J]. J Infect Dev Ctries, 2012, 6(10):692-694.

[9] Xu DZ, Yan YP, Choi BC, et al. Risk factors and mechanism of transplacental transmission of hepatitis B virus: a case-control study[J]. J Med Virol, 2002, 67(1):20-26.

[10] Xu Dz, Yan YP, Zou S, et al. Role of placental tissues in the intrauterine transmission of hepatitis B virus[J]. Am J Obstet Gynecol, 2001, 185(4):981-987.

[11] Li Liming. Epidemiological research cases in China[M]. Beijin: People's Medical Publishing House, 2008.

[12] H. Sun, X. Tang, B. Wang, et al. The preliminary study on molecular evolution of two routes of intrauterine transmission of Hepatitis B virus[J]. Arch Virol, 2012, 157:155-164.

[13] WHO: Disease outbreak news: Middle East respiratory syndrome coronavirus(MERS-CoV)-update http://www.who.int/csr/don/2013_11_11_coronavirus/en/index.html.

[14] Memish ZA, Mishra N, Olival KJ, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats, saudi arabia[J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(11):1819-1823.

[15] Imai M, Watanabe T, Hatta M, et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a ressortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets[J]. Nature, 2012, 486(7403):420-428.

[16] Herfst S,Schrauwen EJ,Linster M,et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets[J]. Science,2012,336(6088):1534-1541.

[17] 徐德忠,卓文言,李远贵,等. 托幼机构甲型病毒性肝炎的流行病学调查[J]. 中华医学杂志,1985,65(3):148-150.

[18] 中国-世卫组织联合考察上海防控人感染 H7N9 禽流感(2013 年 4 月 20 日-23 日)通报会实录[EB/OL]. http://www. moh. gov. cn/mohgjhzs/s3578/201304 a6bb914e8bb8424dafbfae 1af30 13bdb. shtml.

[19] Hubálek Z. Emerging human infectious diseases:anthroponoses,zoonoses,and sapronoses[J]. Emerg Infect Dis,2003,9(3):403-404.

[20] Xu D,Sun H,Su H,et al. SARS coronavirus without reservoir originated from an unnatural evolution,experienced the reverse evolution,and finally disappeared in the world[J]. Chin Med J(Engl),2014,127(13):2537-2542.

[21] Zhao B,Zhang X,Zhu W,et al. Novel avian influenza A(H7N9)virus in tree sparrow,Shanghai,China,2013[J]. Emerg Infect Dis. 2014 May;20(5):850-853.

[22] Song H,Tu C,Zhang G,et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102:2430-2435.

第二章　生物武器概论

第一节　生物战剂与生物武器

生物战剂(biological agent),是指在战争中用来伤害人、畜或毁坏农作物的致病微生物和生物毒素。生物武器(biological weapon),是指生物战剂及其装载释放装置的总称,一般由生物战剂、弹体、施放装置、推进装置、定时装置和爆破装置等组成。

一、生物战剂的特点

当前,生物战剂的分类方法有多种。根据生物学特性,战剂曾分为细菌性、病毒性、真菌性和毒素战剂四类。细菌性战剂包括炭疽芽孢杆菌、鼠疫耶尔森菌、土拉弗朗西斯菌、布氏杆菌、贝氏柯克斯体等,病毒性战剂包括天花病毒、东方马脑炎病毒、委内瑞拉马脑炎病毒、黄热病毒等,真菌性战剂包括球孢子菌、荚膜组织胞浆菌等,毒素战剂包括肉毒毒素、蓖麻毒素、葡萄球菌肠毒素 B 等。

尽管很多种病原微生物和毒素都可以引起人类疾病或中毒,但仅有极少数可作为生物战剂用于生物武器。可作为生物战剂大规模使用的病原微生物或毒素,需要基本或者完全符合下述条件:可以方便地大量生产;在可施放量范围内可以造成人死亡或失能;传染性强(毒素除外);产生合适大小粒子的气溶胶;易于播撒;在生产后的储存、武器化和施放后等条件下稳定,且保持毒力;敌方敏感而己方有有效的防护手段。当然,随着生物武器的发展,作为生物战剂的条件将会产生相应之变化。

1. 易于生产　许多细菌和病毒可以分别用现代发酵和培养技术大量生产;某些毒素,如蓖麻毒素来源广泛,提取工艺成熟,也可满足战剂生产所需。尽管目前还有许多病原微生物生长缓慢,滴度不高,某些毒素在自然界存在有限,但是将来可以用现代生物技术加以解决。

2. 致死和失能及其潜伏期长短之利用　根据战剂的作用效果,即病死率之高低区分为两类:通常以 10% 为界,低者为失能性战剂,高者为致死性战剂。前者会使敌方部队丧失战斗力,增加敌方卫勤保障负担;后者直接杀伤敌方部队大量人员。委内瑞拉马脑炎(VEE)病

毒就是典型的失能性战剂，炭疽芽孢杆菌、鼠疫耶尔森菌、埃博拉出血热病毒、马尔堡出血热病毒和克里米亚-刚果出血热病毒等都是致死性战剂。

人感染生物战剂后均需经一定的潜伏期才发病。因此，为获得生物武器之精准效果，可利用战剂潜伏期长短，达到不同之目的。如战争中作为一种战术手段使用，往往选择潜伏期短的生物战剂；但在平战时作为恐怖、暗杀活动等使用时，则可选择长潜伏期的生物战剂。

3. 气溶胶粒度大小必须合适 生物战剂可以通过多种途径感染人：吸入途径，即以气溶胶吸入感染；经口途径，即通过污染食物或水食入感染；侵入途径，即通过注射感染或体表伤口感染；皮肤途径，即经皮肤吸收感染。其中，在生物战时吸入途径之防护最重要。

战剂气溶胶理想的粒子，应符合两个条件：可以随风漂移较长距离；可以被污染区人群吸入肺深部。气溶胶粒子直径为 1 ~ 5 μm 时可以满足上述条件。这种小粒子气溶胶肉眼看不见，如果没有战场远程侦察系统等专业装备，很难发现这种气溶胶云团。较大的粒子在施放后会很快沉降于地面，即使吸入，也会被上呼吸道防御系统排出。

4. 易于播撒 理想战剂应当可使用现成设备（如工业喷雾器）在大气中播撒。其可安装在飞机、轮船或汽车等交通工具上，或者在固定地点进行播撒。生物战剂播撒，如果发生在一相对密闭建筑内则对人员伤害会更大。生物战剂除需产生合适大小气溶胶粒子外，应在干燥状态下施放，可使其随风飘散得更远。

5. 稳定性 生物战剂在生产、储存、转运和施放过程中均应保持活性和毒力。因此，无论是大量储存，还是装填武器，都必须考虑到生物战剂的稳定性。炭疽芽孢能够耐受干燥、高温、紫外线辐射等物理因素，在环境中可以存活至少 50 年，故为较理想的战剂；然而，其在强紫外辐射（强阳光）下也易被破坏。

6. 易感性 理想战剂还应满足敌方易感、己方具免疫力的要求。因为施放后，会随风飘散，如风向突然改变，使战剂飘向己方，造成伤害。

二、生物战剂的施放方式

生物战剂可以以湿态或干燥状态施放。如上述，干燥施放比较理想，但战剂的干燥需要复杂的技术。战剂的施放可以通过喷雾装置、爆炸装置、人为污染食物和水源、施放感染的媒介生物等方式进行。最常见的方式是气溶胶施放。

如前述，将喷雾装置安装在交通工具上进行气溶胶施放是较好的手段。其施放路径会形成一条线状污染带，称之为线源（line source）施放。这种手段一般逆风行驶进行施放，感染下风向一定范围内的人群。污染范围取决于风速、风向、气象条件、地形和植被及战剂自身特性等因素。稳定的战剂（如炭疽）可以污染下风向 20 km 的范围。WHO 的一项研究表明，在理想的气象条件下，如果 50 kg 气溶胶化的炭疽芽孢，由飞机喷洒在一居民区的上风方

向 2 km 处时，假定该区居民 50 万人，且未采取任何防护措施，可造成 9.5 万人死亡，12.5 万人感染，即 22 万人死亡或失能，气溶胶云团所经之处超过 40% 的人员受到感染；而土拉弗朗西斯菌可造成 3 万人死亡，12.5 万人感染。可见在理想的气象条件下，将某些生物战剂进行气溶胶施放，可引起大量人员的伤亡。

另一种气溶胶施放手段是点源（point source）施放，即将施放装置固定在一定位置进行施放。有的是将生物炸弹投放到一个固定目标后进行施放。

其他施放方式包括爆炸式施放（一般效果不明显）、陆地或海上地雷、管式炸弹及其他装置。秘密武器（clandestine）指那些恐怖组织或特种部队用于施放生物战剂的工具，如经皮注射式武器或污染食品或水源的武器。通过媒介生物（跳蚤、蚊虫等）作为载体施放也是手段之一。

生物战剂施放后可以通过呼吸道、消化道和皮肤伤口等侵入人体，导致疾病的发生。如前所述，生物战剂气溶胶通过呼吸道使人畜感染，以及患病人畜通过呼吸道使接触者继发感染，是最为有效的生物攻击手段。如果人畜通过食用战剂污染的水或食品而发病，虽也可造成二代传播，但潜伏期长、地区分布较局限，常呈点状或线状。

三、生物武器伤害的特点

1. 面积效应大 面积效应是指单位重量的武器所造成的有效杀伤范围。理论上，在各种武器中生物武器的面积效应最大，因为多数生物战剂是活微生物，进入人体后可以繁殖，不仅引发疾病，还可通过继发感染扩大杀伤范围。根据联合国《化学和生物武器及其可能的使用效果》的估算，一架 B-52 战略轰炸机携带核武器、化学武器和生物武器对全无防护的人群进行假定的袭击，预测所造成的有效杀伤面积：百万吨级核武器为 300 km^2，15 000 kg 神经毒剂化学武器为 60 km^2，而 10 t 生物武器有效杀伤面积为 10 万 km^2，达到核武器的 300 多倍。

2. 危害时间长 由于气象、植被、战剂种类和地物等因素的影响，生物战剂气溶胶对地面人、畜的危害时间存在一定差异。一般而言，白天 2 小时左右，夜间和阴天为 8 小时左右。在特定条件下，某些病原体可以长期存活，如霍乱弧菌在 20℃ 水中能存活 40 小时以上，贝氏柯克斯体在金属、玻璃或木材表面能存活数周之久，而炭疽芽孢在阴暗潮湿的土壤中甚至可以存活数十年。有些生物战剂施放后能被当地的媒介生物携带并传播，在条件合适时，有些生物战剂病原体甚至能扎根形成新疫源地，长期危害环境、动物和人类。在人类传染病流行的自然史上，西尼罗病毒由鸟类带到美国加州后形成疫源地，并迅速扩展到美国大部分地区。

3. 具有传染性 除毒素类等外，目前广泛使用的生物战剂均具传染性，能在人体或动物体内生存繁殖，甚至使之成为传染源，在两个因素影响下，和传播途径、易感人群相互联系，

在一定范围内传播(详见有关章节)。例如历史上流行的流感、霍乱、鼠疫等疾病,都能在短时间内传播到其他地区,而2003年流行的严重急性呼吸系统综合征(SARS)在很短时间内就传播到世界各地,引起了社会的巨大恐慌。

4. 生物专一性 生物战剂只能使人、畜和农作物等生物致病,但对不具生命特征的其他生产、生活资料、建筑设施,以及武器装备没有破坏作用。这一特点在军事上具有极大的优势,因为袭击成功后,攻击一方可以立即使用占领区内的所有物资和生产资料等。

5. 空间渗透性 理论上,生物战剂气溶胶可以随着空气流动进入一切不密闭的、没有空气过滤设备的工事、车辆、舰艇和建筑物内部,造成人员伤亡,给防护造成极大困难。

6. 隐蔽性突然性 生物战剂气溶胶无色、无味、看不见、摸不着,人们即使身处充满生物战剂气溶胶的环境中,也无法察觉所受到的伤害。正常人每分钟需要呼吸10 L的空气,因此即使空气中生物战剂气溶胶的浓度很低,呼吸数分钟后也有感染的可能性。人的肺泡表面积为100 m^2,远比人体表面积大,而且肺泡壁与毛细血管壁之间仅隔着1 μm厚的两层细胞,肺泡中的气溶胶粒子很容易进入血液,因此许多生物战剂气溶胶的呼吸道感染剂量要远小于消化道感染途径。

防毒面具、防生口罩等虽然能有效阻止生物气溶胶进入呼吸道,但其佩戴通常需要在有效气溶胶报警以后才能进行,此时人员可能已经吸入足够剂量的生物战剂。因此其防护效能除取决于本身的物理特性外,还取决于报警是否及时。如果突然实施袭击,受攻击方无法进行及时防护,同样会造成严重伤害。

7. 生产成本低 目前,微生物大量培养的工艺及自动化设备都比较成熟。在工业发酵生产中,一个发酵罐的容量可以达到上百吨。生产的微生物或其培养物经过浓缩和冷冻干燥,在低温条件下可以长期存放。此外,发酵原料主要来自农牧产品,成本低廉,来源丰富。曾有专家估算,为杀伤居民进行一次大规模袭击,每一平方公里所需成本,生物武器是常规武器的1/2000。当然这仅为理论估算,实际而言,虽然实验室培养少量微生物和发酵生产大量微生物都比较容易,但要形成应用的武器系统,并使之在实战中具备大规模杀伤效应,绝不是轻而易举的事。

8. 间接效应大 生物武器攻击除了造成直接的人员伤害外,还有许多间接效应。

主要使卫生医疗救护体系造成巨大负担:生物袭击后其危害作用时间明显长于爆炸等常规武器损伤,而且可能有较强的传染性,传播途径多种多样,因此,除了一般的措施外,还需一些特殊的卫生防疫措施,如疫情侦察、污染区域调查与处理、人员卫生整顿和检疫、隔离、住院观察等等。特别在出现大量患者时,往往超过卫生防疫和医疗机构的负荷,需要另筹资源,组织增援。国外曾有人以肺鼠疫为例提出过以下设想:吸入1000个活菌的人员中将有50%出现临床症状,其中75%的患者需住院治疗,未接受治疗者将有80%死亡;如果一

个500万人的中等城市遭受袭击,在储备足够治疗药物并疏散三分之一人口的情况下,估计仍将会有50万人需入院治疗,死亡人数可达10万以上。这些推算虽然不一定精确,却足以说明防护工作的繁重。

此外,生物武器袭击不仅会造成群体发病和大量伤亡,而且能造成强大的心理压力,影响战斗力。因为像其他灾难一样,袭击后相当时期内,人群笼罩在恐惧氛围下,出现一些急、慢性心理损伤患者。换言之,生物武器袭击也能引起急慢性心理和精神疾病:急性者,如急性战斗应激障碍;其中,大多数人及时治疗后恢复良好;但有些特定的高危人群(例如,年幼时心理受伤者、战友尤其上级支援和协助不足者以及目睹战场残酷情景之救援人员等),可在战后数月至数年出现战斗应激障碍综合征等精神异常,后者将持续相当长时间。

四、生物武器效能的影响因素

1. 生物战剂特性　不同的生物战剂特性存在差异:有的战剂潜伏期长,有的短;有的导致死亡,有的失能;有的传染性强,有的弱;有的对环境抵抗力强,有的弱。生物战剂特性的差别直接影响其所对应生物武器的效能。

2. 气象条件　生物战剂气溶胶施放的条件比较苛刻,只有在合适的气象条件下才能达到较好的效果。一般而言,如果要使生物战剂气溶胶在目标区域形成大面积的覆盖,并在一定时间内维持有效浓度,必须满足以下条件:

(1)近地面大气必须稳定:即离地面0.5 m高处的气温低于或等于地面4 m处的气温,即处于气象学上的逆增(inversion)或中性(neutral)状态。如果0.5 m高处的气温高于地面4 m处的气温,下面的热空气会上升,上面的冷空气会下降,从而形成对流,这种递减(lapse)状态通常出现在晴朗的白天;生物战剂气溶胶在递减的状态下会迅速被稀释,从而不能保持有效浓度。

(2)必须有一定的风速:理想的风速是3~6 m/s。风速过小,气溶胶云团不能形成大面积覆盖;而过大,则空气与地面摩擦力增大,形成许多漩涡,气溶胶将很快被稀释。

(3)风向比较稳定:只有风向稳定,生物战剂气溶胶才能向攻击目标漂移。如果风向改变,则气溶胶云团会偏离目标;而如果施放后,风向突然逆转,则可能危害施放者自身的安全。

(4)没有强烈的日光:日光中的紫外线对生物战剂有强烈的杀伤作用,因此施放生物战剂气溶胶以黄昏、黎明、夜晚或阴天效果最佳。

(5)没有降水过程:降水,雨、雪等对生物战剂气溶胶有明显的消除作用,使气溶胶的有效浓度迅速下降。

3. 地理环境因素　地形、地面粗糙度以及植被等地理环境因素对生物武器效能也有很

大影响。地形可以通过热力和机械作用的影响使空气分流和改变方向,从而影响生物战剂气溶胶在目标区域的扩散,平原、低地、洼地、壕沟等地形能较长时间保持生物战剂气溶胶的浓度。地面粗糙度的影响体现在,松软土质的地面能增加生物战剂气溶胶的阻留和沉积,降低其效应;高低不平的粗糙地面能使气溶胶移行偏向;建筑物能引起涡流,影响气溶胶的扩散。茂密林区、高草、矮树丛等能阻滞气溶胶云团的流动,并造成气溶胶沉积,从而影响气溶胶的移行和有效浓度。

4. 对方防护情况 传染性生物武器攻击,能造成传染病流行和蔓延,因此受攻击方针对传染病的防护和应急响应能力,如防护训练、药材储备、诊治能力等都直接影响生物武器攻击的效果。

五、生物武器的优缺点

1. 优点 生物武器作为一种战争工具而言,具有以下优点:对易感人群的致死和失能作用;在动物和人体内可以繁殖,造成的伤害呈持续性;对同等杀伤规模的核武器、化学武器和常规武器相比,其生产成本比较低;造成的传染病或中毒与对方自然发生的同种流行病不易区分;实时检测生物战剂困难;某些战剂在施放后要经过一定的潜伏期才发病,收集证据困难;生物杀伤专一性,对环境建筑等破坏小,甚至无破坏性;敌方心理压力大,作战效能高。

2. 缺点 生物武器同样也存在一些不足,例如:己方防护措施不当,本身也有伤害;受环境因素影响大,如风力和风向等;温度、阳光、干燥气候等对战剂存活影响较大;某些战剂对环境的污染,如炭疽芽孢,会使污染地区长期不适于人居住;攻击后,己方人员进入会引起已沉积的气溶胶飞扬,造成新的感染;生物武器攻击后的效应较难评价;某些战剂发病的潜伏期较长,限制了战术使用;公众厌恶生物武器的使用,遭致舆论强烈谴责。

第二节 生物武器与生物战的历史

顾名思义,生物战是指应用生物武器来完成军事目的的行动,生物战是一种国家层面的战争行为。

一、原始的生物战

历史上,人类在使用自身发明的技术造福人类的同时,也在用其毁灭自身。当代使用“武器化”的生物毒素(如肉毒毒素和蓖麻毒素)的尝试是从石器时代南美土著人在箭上使

用的毒物(如箭毒)和从两栖动物中提取的毒素得到启发的。从古至今,污染物(能贮藏并传播疾病的物品)就曾被有意用来传播感染疾病。

14世纪中叶,鞑坦人围攻克里米亚半岛的卡法城,久攻不克;1346年,鞑坦人将己方死于鼠疫的士兵尸体抛入城中,引发鼠疫流行,迫使守军放弃卡法城。随后,撤退的军队、难民通过船队返回康斯坦丁、开罗、威尼斯等地中海港口,引起世界上第二次鼠疫大流行(黑死病)。

历史上有明确记载的第一次生物战是英国殖民军对美洲印第安人发动的。在英国和印第安人战争期间(1754—1767),北美的英军指挥官 Jeffrey Amherst 建议使用天花来"消除"土著印第安部落对英国人的敌对行为。1763年6月24日,Amherst 的一个下属 Ecuyer 上校将来自天花感染过医院的毯子和手帕交给了土著美洲人,引起了俄亥俄河谷的土著美洲部落天花流行。

二、现代生物武器的发展和研制

1. 实验微生物学和生物武器研制的启蒙阶段(1900—1925) 19世纪,德国微生物学家郭霍(Robert Koch,1843—1910)创用固体培养基,从而实现将细菌从环境或患者排泄物等标本中分离出成为纯培养物,便于对各种细菌分别研究。同时他又创用了染色方法和实验动物感染,为发现各种传染病的病原体提供了有利的条件。19世纪后30年,大多数传染病病原体由郭霍和在他带动下的一批学者发现并分离出的。

可靠的证据显示,德国是最早研制和使用生物武器的国家。在第一次世界大战期间进行了一场野心勃勃的生物战计划,生物武器的攻击方式为派遣间谍或特务撒播,传播范围较小、杀伤力不大,常用手段是秘密地感染同盟国的中立贸易伙伴的家畜和喂养的动物,然后出口到同盟国军队中。1916年从德国驻罗马尼亚公使馆收缴的细菌培养物,在布加勒斯特细菌学和病理学研究所鉴定为炭疽芽孢杆菌和鼻疽伯克霍尔德氏菌;1917年2月,德国飞机曾在罗马尼亚的布加勒斯特上空撒下污染了细菌战剂的水果、巧克力和玩具。1917年,德国特工在美索不达米亚(Mesopotamia),利用鼻疽伯克霍尔德氏菌感染了4500头骡子,重者死亡,轻者丧失劳动力,大大地削弱了部队的战斗力。此外,德国还在法国感染法国骑兵的马匹,并将感染了炭疽芽孢杆菌和鼻疽伯克霍尔德菌的阿根廷家畜故意出口到盟军中,结果在1917—1918年引起200多匹骡子死亡。

2. 生物武器研制和发展使用阶段(1930—1945) 在这一阶段,几个工业发达国家,如德国、日本、英国和美国,都在进行生物武器研制和发展使用;当时生物武器的攻击方式与第一阶段相比,已经有了较大的改进,主要使用飞机投放和撒布带菌昆虫、动物等,污染面积大、杀伤效应较大。

此时德国曾建立两个研制机构:一个在德国的波鸿,一个在波兰的波兹南。德国研究过

的生物战剂有鼠疫耶尔森菌、霍乱弧菌、斑疹伤寒和黄热病毒等;研究过利用带菌昆虫攻击家畜和农作物;还曾用细菌弹人为释放病原体,使苏军战俘营发生斑疹伤寒。1945 年的 5 月,德国战术性使用生物武器污染被围攻的 Bohemia 西北部的一个大型水库。

日本于 1932 年占领我国东北后,在石井四郎(Shiro Ishii)和北野(Kitano Misaji)领导下进行了生物武器研究,并一直持续到第二次世界大战结束。当时日军在我国设有四支生物武器研制、生产部队:哈尔滨平房车站附近的生物战研究机构"731 部队"、长春的生物战研究机构"100 部队"、南京的"荣"字 1644 部队和广州的"波"字 8604 部队。"731 部队"是日本生物武器发展计划的研究中心,拥有 5 个营地,150 幢建筑和一支超过 3000 名科学家和技术人员的队伍;他们用炭疽芽孢杆菌、脑膜炎奈瑟球菌、志贺菌、霍乱弧菌和鼠疫耶尔森菌等病原体感染犯人;并研制了多种类型的细菌炸弹。从 1932 年到 1945 年日本生物武器研制中,至少有 10 000 犯人死于实验感染或实验后被处死。另外,"100 部队"专门研制杀伤家畜和农作物的生物战剂。

从 1940—1945 年,日军在我国的浙江、湖南、河南、河北等地使用过生物武器,使宁波、常德等地区发生鼠疫流行,先后有 700 多人感染发病。至少有 11 个中国城市受到生物战剂的攻击。日军生物战攻击的特点是用纯培养的炭疽芽孢杆菌、霍乱弧菌、志贺菌和沙门菌以及鼠疫耶尔森菌污染水源和食物,并直接从飞机上向居住区投掷和喷洒。此外,日军还通过施放感染病菌的媒介生物进行生物战。

这一时期,同盟国也发展了生物武器以对付德国可能的生物攻击,英国于 1934 年开始秘密开展生物武器防护研究,如疫苗、抗血清、诊断技术等。1939 年,英国开始进行进攻性生物武器的研制。1942 年,英国在靠近苏格兰海岸的格林亚德(Gruinard)岛上进行了武器化的炭疽芽孢杆菌炸弹威力试验,以羊作为实验对象,经多次实验获得成功,实验羊全部被杀死。24 年后的检验证明,Gruinard 岛仍被炭疽芽孢严重污染,直到 1986 年用甲醛溶液和海水对该岛进行彻底消毒处理为止。此外,英国还研究了肉毒毒素战剂,并成功地用肉毒毒素杀死了德军驻捷克的总督 Reinhard Heydrich。

美国从 1941 年开始研制生物武器。马里兰州的狄特里克堡(Detrick Fort)是美国最大的生物武器研制基地。此外,美国还建立了大规模的野外实验场和生产厂,如犹他州的达格威试验场和阿肯色州的陆军红松崖兵工厂等,并利用国内的许多研究机构和大学进行生物武器的研究。

美国从 1941—1945 年,在生物武器研究上取得了两项重大突破:一是通过"气雾室计划",搞清了各种气溶胶生物战剂的最佳存活条件和感染致病计量;二是生物战剂的大规模冷冻干燥技术的建立,从而为生物武器的实战应用提供了可行性。美军在这期间研究过的生物战剂有:炭疽芽孢杆菌、鼠疫耶尔森菌、土拉弗朗西斯菌、布氏杆菌、类鼻疽伯克霍尔德

菌、洛杉矶斑疹伤寒立克次体、鸟鹦鹉热衣原体、黄热病毒、登革病毒和裂谷热病毒等。1944 年 5 月,美国研制了首批生物武器——5000 枚炭疽炸弹,并转运到英国,准备一旦德国使用生物武器时进行报复。

3. 现代微生物学和生物武器系统研究与使用阶段(1945—1980) 这一阶段,美国研制、生产和储备了大量的生物武器,使美国成为世界头号生物武器大国。在朝鲜战争期间(1950—1953),美国制定了生物武器快速发展计划,在 Pine Bluff Ark 建立了一家新的具足够安全保护措施的生产实验室,使用发展着的先进技术,应用微生物的大规模发酵、浓缩和贮藏方法,于 1954 年开始生物武器系统生产。另外, 1953 年还开展了一项反生物战措施的研究,包括对疫苗、抗血清、治疗试剂的研究,以向敌方发动生物攻击时保护己方军队。

1943 年到 1969 年,狄特里克堡共发生 456 起实验室感染,在这些实验室感染中有3 例死亡。2 名死于 1951 年和 1958 年的炭疽,一名死于 1964 年的病毒性脑炎,实验室感染的病死率低于当时其他实验室。在生产和测试部门有 48 例实验室感染但无一人死亡。

到 20 世纪 60 年代末,美军发展的生物武器库包括许多致病细菌、毒素和真菌性作物致病剂,并对一些战剂进行了武器化和储存,包括致死性的炭疽芽孢杆菌、肉毒毒素、土拉弗朗西斯菌,失能性的猪布氏杆菌、贝氏柯克斯体、葡萄球菌肠毒素、委内瑞拉马脑炎病毒等。另外,在秘密活动中使用的生物战剂有由中央情报局研制的眼镜蛇毒素、蛤蚌毒素和其他毒素。美国在此期间改进了生物战剂释放技术,利用气溶胶发生器和布洒器喷洒生物战剂气溶胶,大大增强了生物武器的破坏作用。美国曾声称,所有上述研制和使用的生物武器均在 1972 年销毁。

前苏联也在极其秘密的条件下积极研制生物武器,其研究水平与美国相当。前苏联至少有 7 个生物武器研究中心,可以用常规武器和气溶胶发生器撒播生物战剂。1979 年在斯维德洛夫斯克发生一起炭疽芽孢气溶胶泄漏事故,造成下风向上千人感染,引起国际社会的关注。

在生物武器发展的这一阶段中,一个显著特点是拥有生物武器的国家在增多,且生物武器在地区局部战争中得到使用。1984 年两伊战争中,伊拉克对伊朗使用了化学和生物武器,据联合国专家调查,首次证实伊拉克对伊朗使用了生物战剂(黄雨 T-毒素)和化学战剂的攻击,有 5000 多名伊朗士兵受伤,病死率为 15%。1990 年海湾战争最终没有发生生物战,但交战双方都作了生物战的充分准备。伊拉克从 20 世纪 70 年代末开始研制生物武器,到 1991 年 4 月被美军“沙漠风暴行动”摧毁而被迫停止。在这十多年的期间,设在巴格达南部的 Salman Pak 地区的生物战机构曾研究过的生物战剂包括炭疽芽孢杆菌、肉毒毒素等。

在这一阶段,人类对各种致病微生物的病原学、致病机制和生物学特性的研究有了很大的进步,对这些病原微生物有了深刻的认识。正是这些研究方法、技术和研究成果,促进了

生物武器研究的快速发展，不仅研究的生物战剂种类大大增多，而且对这些战剂的生物学特性，尤其是这些战剂气溶胶生物学特性研究得很深入。

同时在生物战剂侦检、防护等领域也取得了很大的进步，如单克隆抗体、核酸探针和PCR 技术等用于生物战剂的诊断，多种战剂疫苗的研制等。

另一方面，随着其他学科领域的发展，在生物战剂释放技术方面也有了较大的进步。如微生物冻干技术的发展，使生物战剂的储存、干粉气溶胶撒播攻击成为现实；飞行器和导弹技术的快速发展，生物武器的攻击方式也有多种方式，不仅可以用飞机撒播生物战剂，也可以用导弹进行生物战剂的攻击。

上述均表明，生物武器的发展和与其相关基础学科技术的进步密切相关；反之，从这些相关学科和技术的发展，也可以窥视出生物武器的发展进程。

第三节　生物武器军控与生物武器威胁

生物武器一直是国际军事和政治斗争中的一个极为重要而敏感的问题。自从生物武器出现那天起，就受到世界绝大多数国家的强烈反对。近百年来，为了减少生物战的威胁，世界各国普遍反对生物武器进攻性研究，要求销毁生物武器，控制生物武器的技术扩散，经过努力，达成了不少双边或多边协议和条约。其中有重大影响的国际性条约有《禁止在战争中使用窒息性、毒性或其他气体及细菌作战方法议定书》(1925)和《禁止发展、生产和储存细菌(生物)及毒素武器和销毁此种武器公约》(1972)。此外，还有许多由部分国家达成的双边或多边协议和条约，如“防止大规模杀伤性武器公约”(1948 年，巴黎)等，这些协议和条约在不同范围内和不同程度上，对世界和平和安全发挥了积极的作用。

1. 早期生物军控　早期的有关国际准则虽然没有明确提出生物武器的概念，但有些相关国际法规和准则涉及了相关问题，并构成了后来正式战争法规和国际惯例的基础。

19 世纪后期及 20 世纪初，随着科学技术的发展，战争手段日趋复杂，武器日趋先进，战争后果也越来越残酷。同时，社会的进步也越来越强烈地呼唤着战争的文明和人道，人类开始考虑制定一些用以在战争和武装冲突中调整交战国、中立国和非交战国之间关系以及作战方法和作战手段的原则和规则，这就是后来所谓的战争法规和惯例。

俄、英、德、法、美、澳匈帝国等 15 个国家于 1874 年布鲁塞尔会议上通过的《关于战争法规和惯例的国际宣言》指出，“战争法规不承认交战各方在采用的伤害敌人的手段方面拥有不受限制的权利。”并在第十三条中明确指出，“根据这一原则，特别禁止：(a)使用毒物或有

毒武器;……(e)使用足以引起过分伤害的武器、弹刃或物质,以及1868年《圣彼得堡宣言》所规定禁止使用的弹丸。”

1899年,有26个国家参加的海牙国际会议在《布鲁塞尔宣言》的基础上,签订了《禁止使用专用于散布窒息性或有毒气体的投射物的宣言》,该宣言为1925年日内瓦议定书的签订奠定了非常重要的基础。

2. 1925年《日内瓦议定书》 该条约全称是《禁止在战争中使用窒息性、毒性或其他气体及细菌作战方法议定书》,简称《日内瓦议定书》,是禁止使用化学和生物武器的重要国际性条约,也是第一个生物军控国际协议。

在1925年召开的关于禁止化学武器的国际会议上,最初起草该议定书主要是针对化学武器,当草案正在签署时,波兰代表建议“在禁止化学武器的同时也应该禁止细菌武器”。这一建议得到较广泛的支持,因而将议定书的范围扩展到包括细菌武器。由于受当时科学技术发展水平的限制,人们还不能认识细菌之外的如病毒原微生物,但实际上在此后一直将议定书中所指的“细菌”理解和认同为“生物”的同义词。

《日内瓦议定书》是第一个重要的国际性明确禁止生物武器的文件,但是即使在禁止生物武器方面也存在不少缺陷,如限于当时的历史条件,该议定书只禁止使用,而未禁止发展、生产或以其他方式获得和保有细菌武器;有37个国家对议定书持有保留,尤其是保留对生物武器的权力,这就削弱了议定书的作用;有的国家将禁止“细菌”作战方法理解为不包括病毒和真菌等微生物病原体;议定书没有核查指控程序条款,也没有对违反议定书的缔约国的制裁条款。尽管如此,议定书对于限制第二次世界大战中生物武器的使用发挥了积极的作用,仍应得到充分肯定。

3. 1972年禁止生物及毒素武器公约 1947年9月,美国提出将大规模杀伤性武器定义为“原子武器、化学武器和生物武器,以及未来可能研制出的具有与原子弹或上面提到的其他武器相当的破坏效应的任何武器”。自此之后,核武器、化学武器、生物武器往往作为大规模杀伤性武器联系在一起,成为军控所特别关注的问题。

1966年12月联合国通过决议,要求所有国家加入日内瓦议定书并严格信守。1968年英国提出对议定书的修补意见,建议“禁止使用、生产和占有微生物武器”,美国同意该建议并要求增加“核查缔约国是否占有、制造生物战目的的生物战剂”。经过与前苏联的激烈争论后达成协议,即将生物武器与化学武器分开考虑,首先力图在限制生物和毒素武器方面有所突破。20世纪60年代末美国单方面宣布放弃生物战政策并销毁生物武器。此后,经过反复磋商,12个西方国家和社会主义国家于1971年3月正式向裁军委员会提出《禁止发展、生产和储存细菌(生物)及毒素武器和销毁此种武器公约》草案。

该公约简称《禁止生物武器公约》或《生物武器公约》、《生物毒素武器公约》,1971年

12月16日由第26届联合国大会通过,1972年4月10日分别在伦敦、莫斯科和华盛顿开放签署,1975年3月26日生效。我国政府于1984年11月15日批约。

公约是第一个完全禁止生物武器系统的武器控制标准,较好地解决了《日内瓦议定书》存在的缺陷,即禁止生物战剂和毒素的发展、生产和储存,禁止获得为战争目的而设计的其他形式的生物战剂或毒素,认识到因生物技术的发展和微生物发酵技术的广泛应用增加了生物武器的潜在威胁性。公约对于限制生物武器的发展及其在战争中的使用,限制部分国家获得研制生物武器所需设备和材料,无疑都具有积极的作用。因为公约的制约,生物战作为一种国家行为出现的可能性已经大大降低。

但是,生物武器公约也存在不少缺陷和漏洞,主要有:公约不反对用于防御目的的生物武器的研究;公约对生物武器的研究与发展没有规定明确的界限,而发展是被禁止的;公约对生物武器研制相关设备、生物扩散以及部队的防护训练未加限制;公约没有规定核查措施,更没有涉及违约核查的条款;公约也没有包含生物战剂清单和阈值。除缺乏有效的监督和核查措施外,公约还存在更深层的漏洞和不足,即由于生物技术的迅速发展,作为公约基础的三个设想(生物武器不被认为是一种现有的选择武器;短期内大量生产超越了许多国家的技术能力;能生产生物武器的国家已经掌握了核武器,可以此对付潜在核力量和化学武器的威胁)已变得越来越没有说服力,因而国际社会普遍认为有必要对公约进行完善和补充。

4. 生物武器威胁现状 尽管由于禁止生物武器公约的制约,公开的进攻性生物武器研究已经在全世界范围内被禁止,但生物武器的潜在威胁增大的观点已为绝大多数国家所认同。美国国会1994年《核化生武器及其威胁》调查报告称,"从大量技术扩散、技术多样性和使用可能性等方面看,生物武器的威胁已经增大"。当前生物武器威胁主要体现在如下几个方面。

(1)*一些国家可能仍在研究和发展生物武器*:1992年俄罗斯总统叶利钦公开承认俄直到1992年仍没有停止研制生物武器。叶利钦称,"虽然总统已经下达了禁止生物武器研究与发展的命令,但可能还没有到执行层"。1992年和1993年俄罗斯叛逃的生物武器专家披露,俄正在发展基因工程生物战剂(如用基因工程改造的出血热病毒和鼠疫耶尔森菌等)。经改造的菌(毒)株对多种抗生素具有抗性并且现有疫苗对其无保护作用。1994年叛逃的俄罗斯生物学家称,直到1994年俄仍未停止生物武器研究。1995年法国评估报告称,俄罗斯可能仍保持着某些生物武器的生产设施。现在还缺乏足够的证据和理由肯定俄罗斯1994年后真正停止了其生物武器研制计划。

美国虽然最早声称终止进攻性生物武器研制计划,但有关生物武器相关研究一直在进行。1990年英国出版的《防止生物军备竞赛》称,"对美军300多项生物研究项目分析,很难分清其是进攻性还是防御性目的。其相关研究经费80年代以来一直在增加,1985年达最高

值,此后一直保持在较高强度。军方还建议建立一个利用生物技术研究高毒性或致死性微生物的实验室。”

美国防部生物技术计划中可能的进攻性应用研究项目包括:使疫苗无效的生物战剂、诊断困难的生物战剂、超级毒素、生物战剂气溶胶施放、生物战剂的生物媒介、新生物战剂、耐药生物战剂、生化(激素)武器、增加毒素生产能力等。其中,微胶囊化、生物战剂和毒素气溶胶化用以评估进攻可能和防护工具的效果、气溶胶施放数学模型、气溶胶免疫方法、药物及神经毒抗毒剂的气溶胶施放、工业化规模生物生产设备、百万份数量的疫苗贮存、昆虫媒介等都很可能与进攻性目的有关。

(2)被怀疑有生物武器进攻性研究计划的国家增多:法国1995年技术评估报告、美国核防护局1996年研究报告、美国中央情报局1996年《武器扩散威胁》报告、美军1996年《未来战争》研究报告等称,90年代与80年代相比,被怀疑有生物战计划的国家(地区)增加了一倍,俄罗斯、叙利亚、伊拉克、伊朗、利比亚、朝鲜、以色列、埃及、古巴、中国台湾、罗马尼亚、保加利亚、巴基斯坦、印度和南非等均可能拥有生物战计划。

(3)生物技术发展增大了生物武器的潜在威胁:美、英、俄、德、瑞士、瑞典等国1996年递交的政府专家报告称,“基因工程生物战剂的潜在威胁增大”“种族基因武器在理论上是可能的”“毒素基因武器的理论可能性在增大”。“种族基因武器在理论上是完全可能的,但其发展是否会超过其理论可行性,目前还不清楚。”“毒素基因武器的理论可能性在增大。天然的毒素是由动物、植物、微生物、藻类等产生,而随着生物技术的发展,现在已经完成了20多种具有潜在军事价值的毒素的基因克隆和表达。”虽然到目前为止还没有关于用基因工程技术增强天然毒素毒性的事实报道,但许多国家政府专家1996年科学技术报告都认为,“理论上,通过基因重组发展混合型毒素生物战剂的可能性在不断增大,何况可供军事选择的天然毒素已经很多”。

俄罗斯科学家1996年透露,俄已用基因工程方法研制出一种“超级炭疽毒素”。美国防部1999年有报道称,以色列正在研究针对阿拉伯人的人种基因武器。1997年7月有报道称,英国已组织了由军事专家、遗传学家、生物学家和律师组成的小组,研究种族灭绝性基因武器的可能性及其对策。

(4)生物武器进攻性与防御性研究很难区分:《公约》允许为防御性目的而进行的研究,但事实上,进攻性和防御性研究的界限很难界定。1990年英国《防止生物军备竞赛》指出,美国军方资助的项目中“可能的进攻性发展的活动包括:有进攻性生物武器计划的政策分析,有研究与发展生物武器的详细预算准备,有研究与发展预算表决,有研究与发展的人员补充,有研究机构和基金合同研究的组织,有生物战剂研究项目的选择,有生物战剂发展项目的选择,有发展机构的选择,有大规模战剂生产技术的发展,有目标脆弱性研究,有武器载

体或媒介研究项目选择,有战法使用理论的发展,有生物战进攻队员的技术训练(是其训练大纲的一部分),有生物战模拟演习(训练大纲的一部分)。"

(5)*新军事革命加剧了未来战场的生物武器威胁*:由于美国等率先进入新军事革命的发达国家在高技术常规武器方面占有绝对优势,使得一些弱小国家可能采取以化学生物武器与之抗衡的策略。美国国会技术评估办公室 1997 年《大规模杀伤性武器扩散:危险评估》报告称,由于新军事技术革命的不均衡性,生物武器可能被一些不发达国家看成是最经济有效的大规模杀伤性武器,甚至可用以与核武器抗衡。

(6)*各国权威专家对生物武器威胁普遍表示担心*:英国化学生物武器防护权威顾问肯顿 1995 年称,"生物战的威胁并未消除"。澳大利亚科学技术组织三防主任克龙 1996 年称,"对生物战爆发的可能性日益担心"。美军埃奇伍德研究发展与工程中心化学生物防护司令部顾问华德士博士 1998 年称,"生物武器已成为对美国最主要的战略威胁"。

(7)*生物武器扩散加剧、控制困难*:美国国会技术评估办公室(OTA)1997 年发表的《大规模杀伤性武器扩散:危险评估》报告提出了 3 个主要观点:第一,虽然仅少数国家致力于发展生物武器,但主要集中在世界上的一些不稳定地区,如中东、南亚、朝鲜半岛;第二,大规模杀伤性武器的扩散使所有国家都面临着危险,尤其是美国;第三,苏联解体加剧了生物扩散。

美国中央情报局 1997 年的《化学生物威胁》报告称,世界上大约有 400 家公司生产能用以制造化学和生物战剂的两用设备。澳大利亚 25 国集团已经正式通过控制生物细菌、病毒、毒素和两用设备的出口法令。报告详细介绍了制造化学和生物武器战剂所必用的两用设备的各种型号,如发酵罐、离心分离机、冷冻干燥机、活微生物密闭设备等,并介绍了生产这类设备的许多公司。认可了可能非法设备的准则。在生物武器方面,潜在非法设备可能包括:100 L 左右的发酵罐,特殊密闭设备,以及生物战剂和毒素的侦检分析系统。尽管如此,欲防止生物武器专家外流及其技术和设备的扩散,非常困难。

(宋亚军　杨瑞馥)

参考文献

[1] 杨瑞馥. 防生物危害医学[M]. 北京:军事医学科学出版社,2008:3-26.

[2] 贺福初. 军事医学概论[M]. 北京:科学出版社,2011:231-241.

[3] 程天民. 军事预防医学[M]. 北京:人民军医出版社,2006:793-838.

[4] 陈宁庆. 生物武器防护[M]. 北京:人民军医出版社,1991:1-50.

第三章　生物分子进化和系统发育

第一节　生物进化概述

生活在地球上的生物多种多样，大约有870万种，按其生存的环境分为陆地生物约650万种，海洋约220万种；其中动物约780万种，植物约30万种，真菌约60万种。生物生活的环境同样丰富多彩，无所不在。如一些微生物能在极端环境中生存：有些耐高温，能生存在深海306℃热泉中；有些可耐高压，在131.723～141.855 MPa压力下（相当于13～14 km深海）仍能存活；有些超级耐碱，可在pH11.5环境；有些在酸性下生存，pH≤1；有些在有机碳浓度仅为1 μg/g的营养极度匮乏中生存；还有些抗强辐射，1万～2万Gy下活存。

生物不仅多种多样，在其多样性的背后还有其相似性，体现在以下方面：生物的遗传信息都由脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid，DNA）和核糖核酸（ribonucleic acid，RNA）传递，且共用同一套遗传密码；共同的20种氨基酸参与组成蛋白质；大多数生物细胞有相似的新陈代谢过程。

所有生物都来自一个共同的血统，通过生物进化达到目前的多种多样。生物进化是指一切生命形态发生、发展的演变过程。种群是生物进化的基本单位。地球上的生物进化过程是从无细胞结构至细胞的原核生物，又进化为真核单细胞，后按照不同的发展方向，衍生出真菌界、植物界和动物界。植物界的进化过程：从藻类到裸蕨植物，再蕨类植物、裸子植物，最后被子植物。动物界进化：原始鞭毛虫到多细胞动物，再脊索动物，进而脊椎动物。后者的鱼类进化成两栖类，再到爬行类，从中分化为哺乳类和鸟类，哺乳类的一支最终发展为高等生物——人。

一、生物进化观的历史发展

古代，人们通过在生产实践过程中对生物的观察，积累了大量生物形态、结构、生活习性的知识，进而发现了生物变化与环境的关系，从而形成了朴素的生物进化观。如古希腊的亚里士多德提出生物等级观念，把动物分为有血和无血两大群，群下又分若干类。我国春秋时

期老子提出:“道生一,一生二,二生三,三生万物。”即万物有共同祖先。战国《尔雅》记载了多种生物类型的变化;汉初《淮南子》对动植物作了初步分类,且提出各种生物均由其原始生物发展而来。

在生物进化观中,近代科学诞生前,占统治地位的是神创论,代表人物为瑞典植物学家林耐,认为物种是上帝创造,不可改变。然而,法国学者布丰却相信物种是变化的,他认为现代的动物是一些原始类型生物的后代,且食物、气候、驯养、环境等因素可改变动物的性状。随后,另一位法国学者拉马克创立了第一个比较严整的进化理论,提出生物由古老的原始类型进化而来;且根据环境作用、获得性遗传和器官用进废退等原理解释进化过程,否定神创论和物种不变论,为科学进化理论奠定了基础。

1859 年,英国生物学家达尔文发表了《物种起源》。该书认为如今地球上的生物都有共同祖先,各类生物间都有亲缘关系,并提出了自然选择学说,揭示了生物发展变化的规律,创立了科学的进化理论。19 世纪 80 年代以来,德国动物学家魏斯曼等学者把种质论和自然选择学说相结合,进一步丰富了达尔文理论,形成新达尔文主义。20 世纪 30 年代以来,T·杜布尚斯基等学者结合了古生物学、细胞遗传学和群体遗传学等学科,使以自然选择为核心的进化理论得到了进一步发展。60 年代末,日本学者木村资生等人又提出了中性学说,他们在分子水平上揭示了某些进化特征,进一步对进化理论进行了补充。

二、生物进化规律

通过研究生物界物种演变,发现进化是从简单到复杂、从水生到陆生、从低等到高等的进步性过程。生物进化的一般规律是:生物的形态结构逐步复杂和完善;生理功能越来越专门化,生理效能也逐渐提高;随着生物的进化,遗传信息量逐步增加;内环境调控得到不断完善,机体对环境分析能力逐步提高,对环境反应方式不断发展。

除进步性发展外,生物界同时存在一些特化和退化现象。特化指物种适应于某一独特的生活环境、形成局部器官超发达的一种特异适应,是分化式进化的特殊情况;使有利的某一功能大力发展,同时减少其他方面的功能。如马由多趾演变为单蹄使其更适于奔跑。生物体在进化过程中某一器官变小,构造简化,功能减退甚至完全消失,谓之退化,如人的阑尾。某些寄生生物可使某些器官或生理功能逐步退化。如深海有种寄生鱼,雄体寄生于雌体上,则雄鱼消化器官逐步退化,但精巢特别膨大,这种进化是为保证种族繁衍。

三、生物进化方式

生物进化有多种方式,其中,有关物种形成的进化方式主要有两种:一是渐进式,一个种逐渐演变为另一或多个新种;二是爆发式,即多倍化种形成。有关物类形成过程常表现为爆

发式的生物进化方式。

(一)自然选择

在自然界中,生物通过生存斗争,对于环境适应的生物被保留,不适者被淘汰,称为自然选择。自然选择有两种:稳定性选择和前进性选择。前者淘汰趋于极端的变异,保留中间表型个体,大多数自然群体的选择属于此种方式。后者则使生物类型朝某一个、两个甚至几个方向变异,使种群特性逐渐离开原来以中间型占优势的类型。

某些学者将前进性选择又分为方向性选择和分歧性选择。方向性选择有利于表型分布上处于一端的个体,后代将向选择方向逐渐改变,多发生在环境改变或群体迁入新环境时。分歧性选择有利于在表型上处于两端的个体,通常发生在不同亚环境或不同基因型的群体中,可使其在较短距离范围内产生遗传分化。

由此,种群中产生的变异不定向,经过长期自然选择,其中不利的变异被不断淘汰,有利变异则逐渐积累,从而使种群的基因频率发生定向的改变,导致生物朝着一定的方向缓慢地进化。

1. 自然选择特点

(1)自然选择过程是保留有利变异、淘汰不利变异的过程。

(2)自然选择经常是通过生存斗争即争夺食物和生存空间来实现的。

(3)自然选择是漫长的历史过程。

2. 自然选择的证据

(1)可观察到的自然进化过程:由于生物进化的过程,通常远长于人类的寿命,故人一生能够直接观察生物进化的时间有限。但一些学者已观察到某些动物进化的自然选择证据。很好的例子是蛾类体表颜色的变化,其中以 Biston betularia 被研究得最多。在 1800 年前之前工业时代,浅色的蛾类数量庞大,而深色或黑色的蛾类只占博物馆蛾类标本的 1%。而后工业时代,黑色蛾类在一些地方占总数的 90%。因工业化产生的煤烟与其他废物使树干变黑,而蛾类体色变深就可以让鸟类看不见,从而逃避捕食,因此在过去 100 多年间蛾类染色体中的黑化基因的等位基因表达得到了促进。这说明自然选择影响有差异的基因表达的频率。

另一个例子是美国家住麻雀。这种麻雀从欧洲于 1852 年到纽约西南工业城镇——布鲁克林(Brooklyn)定居繁衍,并在随后的 100 年里扩展到其他各地,包括墨西哥、巴西等南美国家。通过观察不同地域同种麻雀的变化(大小和颜色等),科学家推断不同自然选择条件导致了适应物种的优势繁衍。

尽管小规模的观察并不能看到新物种的产生(通过进化产生新物种需要很漫长的时

间),但看到的证据足以证明物种是持续变化着的,而且变化的方向源于自然选择的压力。

(2)同功器官:除了使亲缘关系较近的生物产生同源器官外,自然选择同样使亲缘关系较远的生物产生同功器官(analogous structures)。同功器官,指不同生物的某些结构有相似的功能,但这些器官有不同的发育来源,因此不是同源器官。同功器官的出现,并非证实这些生物间有亲缘关系;而是说明来自相似环境的生物,进化过程中产生了功能相似的结构,以适应相似的环境。鲨鱼是鱼类,鲸是哺乳动物,但都生活在水中,两者有相似的体型。鲨鱼的鳍、企鹅(鸟类)的游泳翼、海豚(哺乳动物)的附肢来源不同,但外形很相似并具有相同功能,其外表的相似性,都需适应在水中活动。昆虫的翅、鸟的翅膀、蝙蝠的翼也是适应飞翔的同功器官。

(3)退化的器官:当生物不需某器官生理功能时,后者即成为多余。化石资料表明体肢退化的过程。鲸的后肢在体表已看不见,但在骨盆处可见相应的残存骨块。同样,毛发在成年鲸中少见,而在新生鲸中可看到。这些变化的结构,包括耳朵、流线形体型等,都是鲸适应水中生活而减少水中摩擦的结果。可见,通过自然选择,使一些结构退化以适应新的生活方式。

(4)对杀虫剂和寄生(病原)生物的抗性:众所周知,新杀虫剂开始时有效,但随后效力越来越低。因为害虫种群中少数幸存的个体已经产生抗性基因,且可将抗性基因传给后代。随着杀虫剂应用越来越广泛,昆虫的耐药基因在种群中出现的频率也逐渐增多。因此,自然选择导致产生适应杀虫剂的种群。典型的例子是DDT:在其使用过程中,昆虫产生耐药性,加之其影响环境、危害人体和野生动物等副作用,现在很多国家都禁用。

在自然选择下欧洲兔免疫力进化,是对寄生(病原)生物产生抗性的经典实例。其于1859年引入澳大利亚,繁殖非常迅速,很快就成为当地畜牧业的敌害,影响了羊毛的产量;同时其喜欢打洞,引起严重的水土流失。黏液瘤病毒(Myxoma virus)可引起欧洲兔黏液瘤病,故政府1950年引入该病毒感染欧洲兔:第一次投放后杀死99.8%兔;第二次则杀死90%;第三次投放,仅杀死40%~60%;此后的投放引起的死亡率越来越低。这可能是两方面原因:其一,病毒在兔烈性感染中,因后者病死率高,降低了其传播机会;其二,自然选择使兔在遗传学上增加了对该病之抵抗力,存活兔将具该病毒免疫力的基因传至后代,且后者在兔群成优势种。最终结果很有趣,黏液瘤病毒将澳大利亚欧洲兔数量稳定在原来的20%左右。

(二)渐进式生物进化

"渐进进化论"认为在对环境进行生存斗争的过程中,生物由于需要适应环境而发生的变异一般都很微小,这些变异逐渐积累成显著的变异就会导致新物种的形成。现代进化论支持渐进进化论和自然选择学说,强调生物进化是群体长时期积累的遗传变化,认为可以通

过选择、重组、迁移、突变、漂变和隔离等作用,使种群遗传信息发生变化,演变为新的物种。

(三)爆发式生物进化

通过对化石的研究发现,在很长时间内新物种化石很少,反映出生物进化非常缓慢。大约距今38亿年前出现了地球上最早的生命。但直到距今6亿年前这长达32亿年的时间里,地球上的生物仍然几乎都是单细胞生物。然而,有些时候,大量新物种化石在较短的地质年代(如寒武纪,距今大约5.44亿年前至5.05亿年前)集中出现。这种自寒武纪开始,种类繁多的多细胞动物在地球上层出不穷地突然出现的现象,被人们称为“寒武纪大爆发”。

(四)断续平衡论

断续平衡论认为新物种化石出现的不连续性是生物进化历史的真实反映,说明生物进化是不连续的,很长时间内新物种出现极少,随后短时间内新物种迅速出现,然后又是很长时间的生物进化停滞,直至下一次新物种集中迅速出现。

四、生物进化的要素

(一)遗传

遗传是生物进化的起点,是指生物体结构和功能在后代复制和重显的现象。正所谓“种瓜得瓜,种豆得豆”。反映生物在生存繁衍过程中能保持自身结构特点,即亲代与子代相似的现象。遗传有绝对性和相对性。生物结构与功能的复制与再显的普遍性、持续性和保守性就是遗传的绝对性。而相对性是指特殊性、散在性和易变性。遗传形态的历史系列就是生物进化的过程。遗传的分子基础主要是DNA。

(二)变异

与遗传相对应的是变异,变异是指同种生物世代之间不同个体之间在结构和功能上的差异。正所谓“一母九子,子子不同”,反映生物的变异现象。变异也同样存在绝对性和相对性。绝对性指变异的普遍性、持续性和一致性。相对性指限相性、间断性和非常住性。

变异分为可遗传变异和不可遗传变异两大类。基因突变和染色体畸变等导致的变异为可遗传的变异,是生物进化的原始材料。

1. 基因突变 基因DNA分子发生的变异称为基因突变,指内部脱氧核苷酸组成或排列顺序发生改变。基因突变普遍存在,分为自然突变和诱发突变。

(1)基因突变的类型:单个碱基置换、移码突变、不等交换。

(2)基因突变的基本特征:可逆性、多向性、稀有性、有害性、随机性和可重复性。

(3)基因突变产生的后果:

①未对个体产生任何有益或有害的效应,即“中性突变”。

②造成生物的生物化学组份的遗传学差异，一般对生物体无影响，如血型、同工酶；但有时有严重后果，如移植排斥。

③可能对生物生存有益，如 HbS 突变基因杂合体比正常 HbA 纯合体更能抗疟疾。

④不利于生物个体的生育能力和生存，如突变后引起肿瘤和遗传性疾病。

⑤致死突变，如死胎、自然流产。

2. 染色体畸变 染色体畸变即染色体的数目或者结构发生改变，遗传信息也随之改变，后代生物体性状的改变。染色体数目变异包括个体染色体的增加或减少，染色体非整倍数变化和染色体整倍数变化。染色体结构变异包括染色体缺失、易位、重复、倒位。染色体结构变异与染色体非整倍数变异，破坏了生物体遗传物质平衡，一般对生物不利，甚至致命。染色体整倍数的变化非但没有破坏原有遗传物质平衡，还能强化生物体某些生命活动特征，对生物的进化，乃至新物种的形成有一定的意义。

上述变异是非定向的，有有利的突变也有不利的突变。是否有利主要取决于环境条件。随着环境条件的改变，有利变异可能变成不利变异，不利变异也可变成有利变异。变异只给生物进化提供原始材料，并不决定生物进化方向，生物进化的方向由自然选择决定。

（三）获得性遗传

获得性遗传是指生物在个体生活过程中，受外环境影响，产生带有适应意义和一定方向的性状变化，并能遗传给后代。在个体后天发育过程中，受外界条件影响发生的具有适应意义的变异。获得性遗传性状对个体生存有利，为遗传性的发展奠定基础。

获得性遗传的实验证据包括：

1. 环境适应性变异 即在对环境适应、选择的过程中，某些个体可能发生有关突变，获得的性状得到遗传。如有一些学者把敏感细菌培养在浓度逐渐增加的含有抗生素的培养基，诱导敏感细菌逐渐耐药，且随培养代数逐渐增多，当回复不含抗生素的正常培养基时，细菌保持耐药性状的时间也逐渐延长。

2. 整体突变 氟尿嘧啶脱氧核糖核苷催化正常大肠杆菌和枯草杆菌中的胸腺嘧啶核苷酸合成酶可得到其抗链霉素基因。几乎 100% 的细胞都变成突变体的现象叫整体突变。

3. 基因组胎教 有性生殖生物受精时分别来自父方和母方的两个单倍体组合成一个二倍体。基因组胎教是在配子形成时（或之前）确定的，在 DNA 复制和体细胞分化期间都保持稳定，在种系进一步分化成卵子和精子基因组时消失。所以，遗传信息中配子来源的记忆能否延续，可以归结为：在配子形成时期，遗传物质受到不同的胎教。

4. 基因的水平转移

（1）转导：指以噬菌体为载体，将细菌的小片段染色体或基因从一个细菌转移到另一个细菌的过程。如在沙门菌的裂解溶菌周期中，温和噬菌体 P_{22} 把含 try+基因的 DNA 片段包装进来，当这些噬菌体释放出来侵染色氨酸突变型沙门菌时，就把 try+基因整合到后者染色体

上,从而产生野生型沙门菌。

(2)转化:转化是某一基因型的细胞从周围介质中吸收来自另一基因型的细胞的DNA而使它的基因型和表现型发生相应变化。如细菌通过质粒可以在整个微生物界交换基因。一些携带耐药基因的抗性质粒陆续被发现,如携带β-内酰胺类、氯霉素、链霉素、庆大霉素和磺胺类药等抗生素耐药基因的抗性质粒等,有些抗性质粒甚至同时携带多种耐药基因。在基因工程中,质粒作为一种转化载体,已做到可在生物界间转移基因,如利用基因重组使大肠杆菌生产胰岛素。

(3)转座:病毒、细菌和真核细胞的基因组中有些DNA片段可在基因组中移动,这种转移称之为转座。携带转座过程所需要的基因并可在基因组中移动的DNA片段称为转座子。转座过程是非同源重组过程。转座子插入位置的基因可发生突变,如转座子插入到编码基因中可能造成该基因失活,而有些转座因子插入到编码基因上游启动子位置,可以起到启动子作用,使下游编码基因高表达。转座与自发突变率处于同一数量级,每代为10^{-7} ~ 10^{-6}。转座形式有两种:保守性转座(转座因子从原位迁至新位,原来位置上的转座因子消失)和复制性转座(转座因子复制至新位置后,原位仍保留)。插入片段精确切离后,可诱发突变回复为野生型,但这种概率很低,每代只有10^{-10} ~ 10^{-6},不精确切离可使插入位置附近的宿主基因发生缺失、易位、倒位、DNA重排和重复。转座效应可使生物基因组大小或基因的数目变动,且使基因组结构改变,基因功能发生相应改变。

5. 兼容现象 进化的兼容现象是指在生物进化过程中生物的不同特点与性质共存,先进与原始共存,绝灭和新生共存等事实所反映的在深度和广度上的镶嵌性,以及在各种水平上产生的不确定性。如某些海生软体动物通过吃某些海藻后,将叶绿体残留在自身消化道细胞内,利用这些叶绿体进行光合作用。

第二节 生物分子水平的进化

早期生物进化理论的主要依据是生理、生化、形态结构等主要的表型特征,加上少量的化石资料。由于这些表型特征和资料非常有限,且随着亲源关系越来越远,表型差异也越来越大,则亲缘关系较远的物种间可比性大大降低,造成推断的进化关系不够准确。伴随着遗传学和分子生物学的发展,基于分子进化分析逐渐成为生物进化学研究的热点和重点。携带遗传信息的生物大分子(DNA、RNA和蛋白质)能反映物种间的亲源关系,从而更清晰、更准确地反映物种的演化过程。

一、DNA 的进化

（一）DNA 含量的进化

伴随着生物有序性的进化，DNA 从质和量两方面均发生了巨大的变化。由于越复杂的生物越需要更多的基因来表达、传递更多的遗传信息，因此在生物进化过程中 DNA 含量不断增多。目前最简单的生物是病毒，有些病毒的基因数量还不足 10 个；而人类总共约含 3 万个基因。当然，DNA 含量与生物进化只是大致相关而非完全相关。如小鼠体细胞 DNA 含量为 5.0 ng，人为 6.4 ng，而非洲肺鱼竟然达到 100.0 ng。但总体上，从微生物到植物和动物的生物进化过程中伴随着 DNA 含量的增加。

（二）编码区 DNA 序列的进化

在生物进化过程中，DNA 链发生变异并将该变异保存，并遗传给下一代，造成了生物群体中 DNA 序列的进化。由于基因编码区 3 个连续核苷酸组成 1 个密码子编码 1 个氨基酸，则编码区 DNA 序列决定了被表达蛋白的氨基酸序列。

当细胞暴露于射线、化学药品、病毒或在细胞分裂期 DNA 复制过程中均可能发生点突变。若细胞 DNA 点突变恰好发生在编码区，则可能会对该编码区翻译的蛋白质造成很大的影响，从而使细胞的表达性状发生改变。如血红蛋白 B 亚基编码区基因的第 17 位碱基“A”被“T”代替，造成第 6 位氨基酸由谷氨酸变成了缬氨酸，使红细胞产生镰刀状外形，由于此种红细胞含氧量低从而引起镰刀状细胞贫血。

编码区 DNA 序列进化可能有害，但也可能有利。如非洲某些地区疟疾肆虐，而人群中约 1/3 人携带镰刀状细胞贫血病的致病基因，由于此种变异的红细胞能吞噬疟原虫，所以携带此种基因的人对烈性疟疾具有更强的抵抗力。在这种环境下，自然选择就倾向于携带致病基因，因此当地人群中还保留了变异的等位基因。

（三）DNA 重复区域的进化

生物基因组 DNA 中存在简单 DNA 序列大量重复，造成相当多的部分出现重复序列。

转座因子是会转移位置的重复 DNA，它们通过转座实现在基因组上的复制和移动；在进化上的意义主要有：①整合到基因中引起突变，进而使表达发生改变；②使重复的基因产生新功能；③干扰基因的编码区域，破坏基因功能；④转座过程中由于未达到精确复制、切割，致使复制产物比原来的 DNA 更长或更短；⑤转座后遗留下的空隙修复不成功时导致变异；⑥相同的重复序列，可能在减数分裂过程中染色体配对时产生问题。

串联重复 DNA 为另一种重复序列，大量存在于真核生物基因组中，且在非编码区所占比例很高。重复 DNA 序列在植物中占整个基因组 80% 以上，而在酵母中，约占 20% 。由于它们数量庞大却未发现具有明显的功能，所以曾被称为垃圾 DNA。但随着越来越多的脊椎

动物的全基因组被测序,科学家们发现这些基因组中均包含非编码蛋白质或转录 RNA 的 DNA 序列,且均在进化过程中保留。因此,这些非编码区比编码区积累了更多的变异。提示这些串联重复 DNA 可能对生物有重要的功能,只是目前我们仍未发现。

(四)基因的进化

1. 基因结构的进化

(1)基因延长形成新基因:人类触珠蛋白有 α_1 链和 α_2 链,α_1 链由 84 个氨基酸组成,有 F、S 两种形式,F 型第 54 位氨基酸是赖氨酸,而 S 型是谷氨酸。α_2 链由 143 个氨基酸组成,其长度接近 α_1 链的 2 倍,包含部分 F 型和部分 S 型 α_1 链。其实,α_2 链是通过基因内不等交换(杂合体的 F 与 S 等位基因交换)而产生,这种基因又叫杂种基因,交换后基因延长而形成了新的基因。

(2)基因重复形成新的基因:如两个重复基因来自同一个基因,则其中一个会发生突变形成另一个功能完全不同的新的基因。因此,通过测定基因核苷酸序列或氨基酸序列可以判定它们是否来自同一个祖先。如人类血红蛋白 α 链和 β 链共同氨基酸比例达 41%,而 β 链和 γ 链高达 73%,这种相似性反映三条链来自同一祖先。

(3)断裂基因、基因重组和基因进化:原核和真核细胞中许多基因是不连续的,有些基因被数目不等的插入序列分隔为若干个基因区,如腺病毒 α 基因,核糖体 RNA 基因等。有研究认为,出现隔离区是为了避免移码突变。此外,DNA 分子从单链到双链也是生物进化史上的一个飞跃。双链中两条单链走向相反,其各自所携带的遗传信息是不同的,故双链 DNA 携带了加倍的信息量。如病毒 SV_{40} 的基因组是一个双链闭环 DNA 分子,由 4 个基因 VP1、VP2、VP3、A 或 T 组成。A 蛋白基因一段间隔区由 346 个核苷酸组成,而在其 mRNA 中并不存在。此外,隔离区还有很多其他的功能。如细菌的插入序列作为隔离区可以起到转录调节作用:当插入到某基因内部,可能使其失活;当插入到基因上游启动子位置,可能上调下游基因的表达。

当两个独立进化的功能区 RNA 偶然连接后,将形成一个镶嵌 mRNA,反转录信息记录在 DNA 上,则形成一个新的断裂基因。此外,断裂基因还可能是基因随机组合的产物。

但"假基因"却与之相反,与正常基因相比,结构上存在不同部位不同程度的插入和缺失。假基因是其中包括广义重组的一系列创造活动错误产物之"痕迹"和"生化化石"。假基因的进化速度快于功能基因,速度大约是功能基因进化速度最快部分的 1.7 倍。另外,假基因在进化过程中,可能与功能基因之间发生外显子交换,因此具有获得功能的可能,是新基因产生的原料之一。

2. 基因调控的进化 有学者认为,可以通过检查同工酶的多重组合形式来研究基因进化过程。如鱼类进化从低等到高等,是无颌纲、软骨鱼纲和硬骨鱼纲,它们的 LDH 同工酶的基因表达似乎也相应反映了某些进化上的差别。无颌纲鱼以七鳃鳗为代表,一个 LDH 同工

酶就可以满足不同细胞代谢需要；软骨鱼纲以水兔银鲛为代表，有两个基因的 LDH 同工酶；硬骨鱼类以鳄鱼为代表，LDH 是三个不同亚基聚合的多聚体。

3. 基因进化过程 基因的进化过程一般先改变基因结构，再改变基因调控。基因进化是先获得新的遗传信息，再产生一个新的有用的基因。祖先基因首先进入分化期，通过结构基因本身的突变和不断积累产生，这样新的基因就会产生。

基因表达调控的变化不仅表现在转录水平，而且也改变了蛋白质产物结构，获得新的调控物质，出现基因表达和组织表达上的变化。

（五）基因频率与生物进化

生物进化过程中必然伴随着大量的遗传物质的改变，从而为自然选择提供基础，可使自然选择从这些变异中去除不利的变异，保留有利变异来适应不断改变的环境。因此，生物群体各种基因出现的频率之差异，对实现种群的微进化很重要。

1. 基因库和基因频率 基因库是指一个种群所含的全部基因。种群是生物生存和生物进化的基本单位，每个种群都有它特有的基因库，种群越大，基因库也越大，反之亦然。种群中的个体一代代死亡，但基因库却代代相传，并在传递过程中不断发展。但当种群很小时，可能会失去遗传的多样性，丧失进化上的优势而被淘汰。

基因频率是指某种基因在某个种群中出现的比例。在足够大的种群中，如果没有基因突变，食物和生存空间充足，种群内个体之间随机交配的条件下，种群中的基因频率不变。但在自然状态下不存在这种情况，实际上由于基因突变、重组和自然选择等因素的存在，种群的基因频率不断变化。基因频率变化的方向由自然选择决定，所以，生物进化的实质是种群基因频率变化的过程。

2. 基因频率变化的影响因素 引起基因频率变化的影响因素主要有选择、迁移和遗传漂变。

（1）选择：选择是保存有利变异和淘汰不利变异从而适应环境的过程。选择的实质是定向改变群体的基因频率，是生物进化和新物种形成的主要因素。自然选择是定向的，只保留有利变异，即与环境相适应的变异。经过无数次选择，一定区域中某物种的有利变异基因不断加强，不利变异基因逐渐淘汰，从而使物种基因频率发生改变，形成新物种或同一物种的亚种。

（2）迁移：迁移是指含有某种基因的个体在从一地迁移到另一地的机会不均等，导致基因频率发生改变。如一对等位基因 A 和 a，如果含有 A 基因的个体比含有 a 基因的个体更多或更少地迁移到一新地区，那么后者建立的新种群基因频率就相应发生了改变。

（3）遗传漂变：遗传漂变指如果种群太小，含有某基因的个体在种群中的数量又很少的情况下，可能会由于这个个体的突然死亡或没有交配而使这个基因在这个种群中消失的现象。种群越小，遗传漂变越显著。

（六）DNA 序列核苷酸差异及其测量

同一条祖先序列的两条后裔，它们的核苷酸差异会随时间累积，部分差异由自发突变

引起。

1. 自发突变率 自发突变指自然发生的突然变异,为诱发突变的对应词。在营养条件好的情况下,自发突变主要由于DNA错误复制,或是自然发生的DNA损伤。基因突变的自发突变率指自然状态下,某基因在一定的群体中,发生突变的频率。基因突变是小概率事件。人类基因的自发突变率为$10^{-6}\sim10^{-4}$/生殖细胞/代。

2. 序列核苷酸差异的测定 描述序列核苷酸差异大小的指标是不同核苷酸位点的比例,公式为

$$\hat{p}=n_d/n$$

式中n_d和n分别为所检测的两序列间不同核苷酸数和配对总数,用此估计核苷酸间的p距离。当序列亲缘关系较近时,p距离可用来估计每位点上的核苷酸替代数,但当p较大时,由于没考虑回复和平行突变,会低估替代数,因此有学者提出了不同的核苷酸替代的数学模型(表2-1)。

表2-1 核苷酸替代模型

	A	T	C	G	A	T	C	G
	(A)Jukes-Cantor 模型				(E)HKY 模型			
A	–	α	α	α	–	βg_T	βg_C	αg_G
T	α	–	α	α	βg_A	–	αg_C	βg_G
C	α	α	–	α	βg_A	αg_T	–	βg_G
G	α	α	α	–	αg_A	βg_T	βg_C	–
	(B)Kimura 模型				(F)Tamura-Nei 模型			
A	–	β	β	α	–	βg_T	βg_C	$\alpha_1 g_G$
T	β	–	α	β	βg_A	–	$\alpha_2 g_C$	βg_G
C	β	α	–	β	βg_A	$\alpha_2 g_T$	–	βg_G
G	α	β	β	–	$\alpha_1 g_A$	βg_T	βg_C	–
	(C)Equal-input 模型				(G)General reversible 模型			
A	–	αg_T	αg_C	αg_G	–	$a g_T$	$b g_C$	$c g_G$
T	αg_A	–	αg_C	αg_G	$a g_A$	–	$d g_C$	$e g_G$
C	αg_A	αg_T	–	αg_G	$b g_A$	$d g_T$	–	$f g_G$
G	αg_A	αg_T	αg_C	–	$c g_A$	$e g_T$	$f g_C$	–
	(D)Tamura 模型				(H)无限制模型			
A	–	$\beta\theta_2$	$\beta\theta_1$	$\alpha\theta_1$	–	a_{12}	a_{13}	a_{14}
T	$\beta\theta_2$	–	$\alpha\theta_1$	$\beta\theta_1$	a_{21}	–	a_{23}	a_{24}
C	$\beta\theta_2$	$\alpha\theta_2$	–	$\beta\theta_1$	a_{31}	a_{32}	–	a_{34}
G	$\alpha\theta_2$	$\beta\theta_2$	$\beta\theta_1$	–	a_{41}	a_{42}	a_{43}	–

注:以上置换矩阵的某一元素(e_{ij})代表i行的核苷酸对j列的核苷酸的替代率。g_A,g_T,g_C和g_G是核苷酸频率。$\theta_1=g_C+g_G$,$\theta_2=g_A+g_T$

(引自:Nei M,Kumar S. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford:Oxford University Press UK,2000.)

二、蛋白质的进化变异

(一)氨基酸替换

突变子指一个顺反子内任何一位点发生突变产生突变表型,即一个基因内产生突变表型的最小单位。若突变引起蛋白质或RNA功能反常,这种突变会很快被淘汰。相反,如果突变不影响或改善蛋白质或RNA的功能,那么,群体内突变子出现的频率则增高,并最终替代原始型,这种突变被称为认可点突变。某些蛋白质每10^9个残基中的认可突变如下:血纤维蛋白肽9.0,免疫球蛋白3.2,血红蛋白链1.4,胰岛素0.4。

根据氨基酸的平均替换率可推测物种开始进化的年代和速度。如血红蛋白α链每个位置氨基酸平均替换率,人、牛、马的平均值为0.132,鲤鱼与人、牛、马的平均值是0.642,两者相差4.8倍,符合地质资料。据地质资料估算,鱼类起源于3.5亿~4亿年,而哺乳动物起源于2500万~8000万年前,它们的相对进化时间大约为5倍。两个序列间有差异的氨基酸所占的比例(p)可用于比较分歧度。公式为

$$\hat{p}=n_d/n$$

式中n_d为氨基酸差异数,n为序列所有的氨基酸数目。

(二)蛋白质进化

DNA的突变率并非进化速率的限制因素,蛋白质结构和功能的制约关系实际上影响着进化速率。纤维蛋白肽的变化速率是每百万年改变1/100残基,对血红蛋白来说则需要600万年,对细胞色素C来说甚至需2000万年。有研究表明,蛋白质的三级结构相对于蛋白质的一级结构作为证明生物进化持续发展的指标更为可靠。当进化的趋异性增强时,多种基因内部产生多种突变,此时,相应的蛋白质分子一级结构发生变异,但如果变化的残基不处于关键位置或处于关键位置但对蛋白质三级结构影响不大,则其在功能上亦表现为保守不变,从进化角度上也没有发展。在生物进化过程中,有些蛋白质或蛋白质的某些区域表现为高度保守,而另有一些发生氨基酸置换与缺失、重复为发展出新物种提供条件。

第三节　系统发育树

从生物大分子的信息推断生物进化的历史,即"重塑"系统发生(谱系)关系,是分子系统学的任务。假如生物大分子进化速率相对恒定,那么大分子进化改变的量只与大分子进化所经历时间呈正相关。假定这些大分子的结构顺序已知,如果我们将不同种类生物的同

源大分子一级结构作比较,其差异量(氨基酸或核苷酸替换差异数)仅与所比较生物由共同祖先分异以后所经历的独立进化时间呈正比。在研究生物进化和系统分类中,常用一种类似树状分支的图形来概括各种(类)生物之间的亲缘关系,这种树状分支的图形称为系统发育树(phylogenetic tree)。用差异量来确定所比较的生物种类在进化中的地位,并由此建立系统树。通过比较生物大分子序列差异数值构建的系统树称为分子系统树(molecular phylogenetic tree)。

可见,建立分子系统树的理论前提是生物大分子进化速率相对恒定。分子系统发生树为研究者提供了一种分子序列进化历史的可视化手段。从任何分子系统树都能得到两类关键的信息:树的拓扑学性质和分支长度。在深入理解分子进化树之前,我们先介绍一些基本概念。

一、序列比对的相关概念

序列比对的目的之一,是让人们能够判断两个序列之间是否具有足够的相似性,从而判定二者之间是否具有同源关系。值得注意的是,相似性和同源性在某种程度上具有一致性,但它们是完全不同的两个概念。在序列比对中,需要区分以下几个相互联系又有区别的基本概念。

(一)同源性、同一性和相似性

相似性(similarity)是指两序列间直接的数量关系,如部分相同、相似的百分比或其他一些合适的度量。

同一性(identity)是指两序列在同一位点核苷酸或氨基酸残基完全相同的序列比例。相似性和同一性都是量的概念,一般用百分数表示。

同源性(homology)是指从某个共同祖先经趋异进化而形成的不同序列,也就是从一些数据中推断出的两个基因在进化上具有共同祖先的结论,它是质的判断。两个基因在“同源”和“非同源”之间,唯能择其一:即“同源”或“非同源”,不像相似性那样具有多或少的数量关系。例如,比较家鼠和小龙虾同源的胰蛋白酶氨基酸序列,发现它们具有41%的相似性,绝不能表达成“具有41%的同源性”。具有很高的相似性并不等于具有同源性。但在大多数情况下相似性可以反映两序列间的同源性。当我们发现两个基因或蛋白质具有很高的序列相似性时,可推测它们之间具有一段共同的进化历程,从而判断它们会具有相似的生物学功能,但是,这个推断在成为结论之前必须经过实验的验证。

(二)直系同源、旁系同源

在考虑序列相似性的时候,还必须认识另外两个概念:直系同源(ortholog)和旁系同源

(paralog)。分子进化不仅使不同的物种发生差异,在某个物种基因组内部也可能发生进化事件。

来自共同祖先的基因称为同源基因。直系同源基因(orthologous gene)是指在不同物种中有相同功能的同源基因,它是在物种形成过程中形成的;而旁系同源基因(paralogous gene)是指一个物种内的同源基因。

直系同源基因和旁系同源基因统称为同源基因(homolog)。一般情况下,一个生物物种的基因组中,两个基因或可读框在各自全长的60%以上范围内,同一性不少于30%时,称为同源基因。研究直系同源基因之间或旁系同源基因之间的功能关系,可以为基因组分析提供很大的帮助。直系同源基因由共同的祖先演化而来,从而具有序列相似性。而旁系同源是种内基因倍增的结果。当序列相似性高时,直系同源可以暗示功能性同源;而旁系同源一般会有相似但功能并不相同。然而,在实践中仅依靠序列信息,区分直系同源和旁系同源并不容易,尤其当两个物种有许多旁系同源基因时。

二、系统发育树的种类

(一)有根树和无根树

基因或生物体的系统发育关系,常用有根或无根的树状结构来显示。前者称为有根树,后者为无根树。树的分枝式样,无论有根或无根,均被称为拓扑结构。对一定规模的分类群,可能的有根或无根树的拓扑结构数目很大。

有根树是具有方向的树,包含唯一的节点,将其作为树中所有物种的最近共同祖先。最常用的确定树根的方法是使用一个或多个无可争议的同源物种作为“外群”(outgroup),这个外群要足够近,以提供足够的信息,但又不能太近,以致不能和树中的种类相混。

把有根树去掉根即成为无根树。所谓“无根”,是指树系中代表时间上最早的部位(最早的共同祖先)不能确定,只反映分类单元之间的距离而不涉及谁是谁的祖先。一棵无根树在没有其他信息(外群)或假设(如假设最大枝长为根)时不能确定其树根。无根树是没有方向的,其中线段有可能向两个方向演化。树系的末端代表现代生存的物种,称为顶结(terminal node),也称为外结(external node)或顶端(tip);树内的分支点叫内结(internal node);两结之间的连接部分称为分枝或枝(branches),也可称之为节(segments)或连接(link)。达到并终止于顶结的枝叫周枝(peripheral branch),未达到顶结的其他的枝称为内枝(interior branch)。

系统发育树的枝长表示进化距离的差异,通常进化树的标尺代表了每1000个核酸或蛋白质分子中的突变速率。

(二)基因树和物种树

基因树是根据生物大分子,主要为DNA的序列数据构建的谱系树;物种树则是反映物种实际种系发生的谱系树。物种树中,两个物种分歧的时间就是两个物种发生生殖隔离的时间。

人们希望得到的基因树和物种树尽可能一致,然而实际上往往并非如此。当某一座位出现等位基因多态性时,从不同物种取样的基因分离时间将比物种隔离时间长。则根据基因建树的分枝式样,可能不同于物种树。Nei(1987)描绘了二种树之间可能的关系,认为两种树存在的主要差异有:基因树的分化时间早于物种树,基因树的拓扑结构可能与物种树不一致。

如何将由多个基因或基因组建立的基因树综合成一个物种树,是分子系统学面临的一个主要难题。Maddison(1997)认为,下述生物学因素是造成两者不一致的主要原因:基因重复所导致的并源而非直源关系,不同生物类群间基因的水平转移,系统演化分歧事件发生后产生分子性状的多型性引起谱系选择等。因此,构建物种树一定要选择直源基因而非并源基因,选择水平转移事件较少的基因,采用基于大量独立进化的基因位点进行分析等等。

(三)期望树和现实树

一个用无限长的序列或每一分支的期望的替代数构建成的树称为期望树。相反,建立在实际替代数基础上的树称为现实树。

在推断系统发育的过程中,常假设所研究的DNA或蛋白质序列非常长(理论上无限长),从中获取的大量核苷酸或氨基酸均为随机抽取的。但是,实际情况则不是这样,研究者往往需要重建一个短序列的进化历史。如果使用短DNA序列片段,则核苷酸或氨基酸替代的数目会受到随机误差的影响。因此,代表实际替代数的系统发育树可能与期望的树不同,甚至这种树的拓扑结构也与长DNA序列片段所获得的树不同。

三、研究步骤

根据分子生物学数据构建生物类群的系统发育树一般包括以下步骤:首先确定所要分析的生物类群,选择该类群中相关亚类群的一些代表种类;其次,确定所要分析的目的生物大分子(DNA、RNA及蛋白质序列等)或它们的组合(可以通过GenBank或通过研究获得);接着,对获得的相关数据进行多序列比对或其他的数学处理,如转变成遗传距离数据矩阵,再通过一些进化分析软件(常用的如:PHYLIP 、PHYML、MEGA等)对处理后的数据进行分析,并基于一定的反映序列进化规律的数学模型构建分子系统树;最后,做相应的统计分析以检验系统树的可靠性等。

(一)分类群的选择

构建分子系统树需要选择内类群和外类群。

1. 内类群选择 内类群选择的数目和依据的科学性,直接影响所得结论的可靠性。多数分子系统学家认为,当所分析的序列长度一定时,构建分子系统树要尽量选择较多的分类群。

内类群选择的主要依据:

①尽量保证所选择的分类群确为一个单系发生的类群;

②尽量使其在所研究的生物类群中具有代表性;

③在某些关系不确定的分支间,增加分类群有助于减弱或消除长枝效应或短枝效应。

2. 外类群选择 选择外类群是为了确定系统发生树的基部位置,进而确定进化方向。

(1)外类群的数目:可以选择单个外类群,即单一外类群;也可选择多个,即复合外类群。如果所研究内类群数目不多,且二者之间的极性关系十分确定,选择单个外类群即可。但在较为复杂的分析中,为了保证所得结论的可靠性,通常选择复合外类群。

(2)选择理想的外类群:如果随机选择外类群,可能亲缘关系较远,所得结果不确定性会增加。所以,在做系统发育研究之前,先对所研究内、外群的关系初步探讨,选择较为理想的外类群,即该内群的姐妹群,二者间有较多的共近裔性状。

(二)目的基因的选择

一般根据所研究的分类群选择适宜的基因。通常,在实践中遇到下述两种具体状况:

1. 分类群分类阶元之高低 在高级分类阶元,如科级以上系统发生分析中,可选择在进化中较为保守的基因或基因片断,如核糖体基因(18S rRNA 基因、28S rRNA 基因);在较低级的分类阶元,则选择进化速率较快的基因或基因片断,如某些细胞器基因(线粒体基因和叶绿体基因)。

2. 分类群基因数目、性质和组合方式 针对每个具体的研究对象,可以选择多个基因,至于哪些是最有效的,通常要比较分析后才能得出结论。因此,可以作多基因或多基因组合分析后寻求一致树来加以解决。

有时涉及多种层次分类阶元的复杂分类群时,为了在不同阶层的演化关系中都获得可信的结果,可以采取组合分析的方法:

①运用较保守的基因作为目的基因推断位于系统树基部的深层次的谱系发生;

②采用进化速率较为适中的基因推断位于系统树中段的谱系发生;

③采用进化速率较快的基因推断在系统树顶端的终端分类单元。

(三)基因序列比对

对同源 DNA 序列进行比对指通过插入间隔的方法,使不同长度的序列对齐达到长度一致,并确保序列中的同源位点都排列在同一位置。

目前,序列比对通常基于点标法和记分距阵法。对于分类群数目较少、序列较短的对位排列,用肉眼判断,可手工排序完成。对于序列数目较多和长度较长的序列比对则需借助计

算机软件,CLUSTAL 系列软件是目前较为常用的排序程序。当然,软件自动排序不可避免也会出现偏差,所以仍需要肉眼辨别和手工校正。

(四)各种建树方法的特点

系统发育学研究需要选择合适的建树方法。具体的建树方法将在本节“四、分子进化树的构建方法”内详细介绍。此处仅简要描述各种建树方法的概况和特点,以供选择时考虑。

目前,建树的方法很多,常用的主要有两大类:即距离法和具体性状法。距离法是将序列数据转变成数据(遗传距离)矩阵,然后通过此数据矩阵构建系统树;具体性状法是直接分析序列上每个核苷酸位点所提供的信息建树,具体性状法包括最大简约法、最大似然法和贝叶斯法。

各种建树方法的主要特性或要求。

1. 对序列相似性的要求 最大简约法适用于相似性很高的序列,距离法则较高则可,最大似然法和贝叶斯法可用于任何相关的数据序列集合。

2. 计算速度 距离法最快,其次为最大简约法和贝叶斯方法,最大似然法则费时。但在实际应用中,既要考虑计算速度,又要考虑分子数据的特点和方法的应用范围。

3. 建树原理和特性 距离法是一种纯数学算法,通过序列两两之间的差异决定发育树的拓扑结构和枝长,它将发育树的构建和最优树的确定融合在一起,故建树过程也为寻找最佳树的途径。其计算速度快,但须注意,该法将原始数据转换成距离矩阵时难免会丢失一些进化信息。

最大简约法和最大似然法,从数学角度在评价树最优标准的基础上,找到使目标函数最优的树。最大简约法能快速分析出序列间的系统发育关系,所建树的短分支更近真实。但当 DNA 序列的进化速率在不同分支相差很大或亲缘关系太远时,该法的单一突变图谱可能会得出似是而非的结论。由于没有考虑核苷酸的突变过程,使长分支末端序列由于趋同进化而显示较好的相似性;而趋同现象违背了简约法则,导致其结果对“长枝吸引”的敏感。

最大似然法充分考虑了所有可能的突变路径,能完全利用数据的系统发育信息。然而,该法建树的核心在于对核苷酸替代模型的选择,由于不同位点的核苷酸替代速率不一致,虽然一般替代模型包含了反映进化过程的参数,但是并非模型越复杂,结果就越理想。此外,由于树的似然值算法的复杂性,以及基于最优标准算法的复杂性,使该法在分类群较多时十分费时,是其应用的最大障碍。

(五)系统发育树的评估

在系统发育树的构建过程中,我们可以根据各种构建系统发育树方法的特点选择合适的方法。一棵用距离法、最大简约法或最大似然法构建的系统发育树可以看做是一个点估计,对这个点估计最好进行可靠性测度。

1. 重复抽样检验 评价系统发育树中每一分支的可靠性,在统计学上用重复抽样的方式来排除随机误差的影响。目前主要有两种重复抽样检验方法:自展检验(bootstrap)和折刀法(jack knife)。

自展检验是一种现代统计技术,该方法利用计算机随机地进行重采样,以确定采样误差和一些参数估计的置信区间。该方法用来推断系统发育树的可靠性,可以与任何一种系统发育树构建方法联合使用,但应基于树的构建方法必须一致。

自展检验的基本原理是:从原始数据集中的重新抽样替换来产生伪数据集,这样的数据集称为自展样本(bootstrap sample);然后用这样的伪数据集来构建系统发育树,称为自展树(bootstrap tree);重复上述过程,产生成百上千的重新抽样的伪数据集,并同时生成对应的自展树;最后检验自展树对最终系统发育树各个分支的支持率。具体做法是:将最终系统发育树与各个自展树进行比较,其中在各个自展树中都出现或大量出现的那些部分将具有较高的置信度。产生相同分组的自展树的数目常常被标注在系统发育树的相应节点旁,表示该树中每个部分的相对置信度。

如果不同位点具有一致的系统发育信号,自展样本将不会发生什么冲突,导致所有的或大部分分支都具有较高的自展支持率(bootstrap support proportion);如果数据缺乏信息或者不同位点包含相冲突的信号,自展样本将有较多的差异,导致大多数分支的自展支持率比较低。自展值越高表示对相关分支的支持越强。

折刀法与自展法的不同之处在于抽样的方式。该方法是由 Muller 和 Ayala 提出的,Lanyon 进行了改进,基本思想为:每次去掉一个可变分类单元(OUT),然后再对剩余的所有 OUT 进行分析。由此可见,折刀法产生的新数据小于原始数据。

2. 内枝检验 内枝检验(interior branch test)指检验每条内部分枝的可靠性,以评价整棵树的可靠性。其是通过检验内枝长度是否显著大于零而评价构建的系统发育树的一种检验方法。内枝检验的基本思想是:若一棵树的拓扑结构是正确的,则表明正确拓扑结构的所有分枝长度估计的期望值为 0 或者正值,而不正确的拓扑结构中至少有一个内部分枝长度为负值,且该分枝产生了序列间的一个不正确分区。因此,如果一棵树的内部分枝被确定是负值,那么该树的拓扑结构很可能就是错误的。

四、分子进化树的构建方法

上述已论及如何选择合适的建树方法,在此简要地叙述三类构建方法的主要步骤和特点。

(一)距离法

距离法通过获得一组同源序列间的进化距离来重建这些序列的进化史。即先获得所有分类群间的进化距离;然后根据它们相互之间距离的关系,构建系统发育树。以下简要介绍常用的几种方法。

1. 无加权算术平均法(UPGMA) UPGMA是最简单的方法,由于它最初在数值分类学中用于反映类群的表征相似程度,所以构建的树有时被称为表征图。当核苷酸替代速率恒定时可构建此系统发育树,且当用基因频率重建系统发育时有明显优势。

2. 最小二乘法(LS) 当谱系间核苷酸替代速率不同,则不能用UPGMA法,应使用容许各个分支核苷酸替代速率不同的方法如最小二乘法(LS)。LS法有多种,常用的是一般LS法和加权LS法。

3. 最小进化法(ME) ME法是基于当使用无偏的进化距离估计时,无论序列数为多少,真实拓扑结构的S预测值将会达到最小,但具有最小S的拓扑结构并不一定是真实拓扑结构的无偏估计。ME法是先检验所有可能的拓扑结构,找出具有最小S值的拓扑结构。

4. 邻接法(NJ) 邻接法(NJ)是距离法中最为常用的方法,该方法是逐步寻找新的近邻种类(序列),使最终生成的分子树的遗传距离总长度为最小。这种方法在每阶段诸物种(序列)聚合时都应用最小进化原理,被认为是ME的简化方法。NJ法采用"校正"距离矩阵减少各分支速率的影响,因而系统树的正确与否依赖于校正距离系数的准确性。NJ法运算简便、快捷,但由于不考虑各个位点的具体情况会丢失有用的遗传信息,且这种方法得出的枝长估算值不具有确定的进化意义。

(二)最大似然法(ML)

ML法原理是以一个特定的替代模型分析一组既定的序列数据,使获得的每一个拓扑结构的似然率均为最大,再挑出似然率值最大的拓扑结构作为最优系统树。分析的参数是每个拓扑结构的枝长,分析的核心是替代模型。基于转换或颠换的速率、碱基频率、位点间替代速率异质性以及不变位点比例等若干特征,模型多种多样。ML法在分类群数目较大、序列长度较长较复杂的分析中有明显优势,但在此情况下,ML法极其耗时且容易给出错误的拓扑结构。

(三)最大简约法(MP)

MP法是假设由一祖先位点替换为另一位点时,发生的替换数目最少的事件为最可能发生的事件。MP法分析分子数据时可以分成加权MP法和不加权MP法。不加权MP法是假设核苷酸或氨基酸替代以相等或近似相等的概率在各方向发生。但实际上往往并非如此,因此,加权MP法更为合理。如果一组序列既包括快进化位点也包括慢进化位点,给慢进化位点更多的权重,会比平权得到更为可靠的树。当序列较长、序列间的分化程度较小且核苷酸替换率较稳定的情况下,这种方法能获得更真实的拓扑结构;相反,则易得出错误的拓扑结构。且当长度较大,序列数目较多时,运算非常耗时。

五、构树过程中存在的主要问题

1. 现阶段研究中所应用的蛋白质和DNA分子进化模型都是理论上的假设,并不能完全

真实地反映分子进化的过程。

2. 分子标记数据在不同研究之间进行比较,缺少对实验条件、样本数量、数据收集和变换的标准化,使各研究间难以相互比较。

3. 对于结构 DNA 基因和无功能 DNA 序列,由于进化过程中碱基的缺失、插入、转位、不等交换和复制错位等现象高频发生,其位点同源性确定比较困难。

4. 由于不同物种的同源 DNA 顺序,进化速率不同,用现有的恒定的进化速率估计出的分歧时间与实际情况误差较大。

5. 样本数过小则无法检测出所有的变异,尤其是稀有变异。对于序列分析,如果分析序列的长度太短,结果易受随机因素影响。

六、分子系统发育树的应用——以分析 SARS 的进化为例

2003 年 SARS 所造成的全球流行危害严重,虽距今已十余年,但至今对其起源仍未清楚。有学者应用系统发育树分析 SARS 进化情况发现,SARS-CoV 的进化(距离)顺序为:2002—2003 年流行期晚毒株→2002—2003 年流行中期毒株→2002—2003 年流行早期毒株→2003—2004 年流行毒株。也就是说 2003—2004 年流行毒株和 2002—2003 年流行早期毒株的亲缘关系较 2002—2003 年流行中晚期的更接近,即与正常的进化方向正好相反,出现了“逆向进化”;结合 SARS-CoV 细胞受体主要氨基酸、特征性 29 nt 等也发生的“逆向进化”证据,从而该学者认为 SARS-CoV 之进化过程和其他冠状病毒不同,甚至反常;由此,为 SARS-CoV 非自然起源之结论提供了系统发育学的依据(详见本书有关章节)。

(王颖芳　段广才　李广林;　李广林　审)

参考文献

[1] 谭雅慧,孙慧敏,唐晓凤,等. SARS-CoV 中性突变速率和有根系统发育树再研究及其起源的新思考[J]. 中华疾病控制杂志,2012,16(10):860-862.

[2] 黄原. 分子系统发生学[M]. 北京:科学出版社,2012.

[3] 李庆伟,马飞. 鸟类分子进化与分子系统学[M]. 北京:科学出版社,2007.

[4] 赵晓明. 生物遗传进化学[M]. 北京:中国林业出版社,2003.

[5] Masatoshi Nei,Sudhir Kumar(著). 分子进化与系统发育[M]. 吕宝忠,钟扬,高莉萍,等译. 北京:高等教育出版社,2002.

第四章　当代基因(人制人新种病原体和致病基因)武器及其施放

为探讨非典和基因武器的关系,笔者搜集、阅读、研究了有关生物武器的许多文献;此时震惊地发现,从近一、二十年,尤其最近几年发表的英文论文之字里行间和包括某些10多年前写、近期解密的发展生物武器文件内容视之,由于高科技之迅猛发展和国际上各种恐怖主义势力日益变换手法,目前基因武器新类型的设计、研究、试制和武器化,达到前所未有之高度;甚至,已有学术证据表明,某些恐怖主义者已经大范围地使用,并收到一定效果。所以,笔者认为,基因武器之发展和使用,已进入一个全新的时期:人制人新种病原体和致病基因武器化及其施放的阶段。换言之,在基因武器之发展史,又树立了一新的里程碑。

为此,在本书编撰过程中,作为一名从事疾病防控教学和研究近五十年的流行病学工作者,感到必须增加这一章,而且应为本书之重要内容。笔者认为,读者若研究此章之后,将会有强烈的认同感。本章将主要讲述当代基因武器之特点,发展过程,研制手段、概念和分类与攻击后果及其流行病学破解策略。

第一节　当代基因武器的主要特点

为了便于和以往基因武器区分,此阶段冠以“当代”,以往的为“传统”。当代基因武器之主要特点如下。

1. 战剂超现代　用作战剂者,已不限于改构基因。主要为基因改造后经动物尤其高等动物群体传代适应试验等方法,将动物病原体,制成人类以往不存在之新品种病原体;甚至制成人类中非普遍存在、以某个体为目标之特异靶向致病基因或其前体。

2. 武器化方式多样且前所未有　按超现代之战剂种类和靶目标物等,其武器化成分和形式多种多样,史无前例。非战争状态下,通常不使用气溶胶。若针对某人群实施人制人新种病原体攻击,很可能先将战剂感染靶目标区相应的易感动物或实验使其易感化之动物。若针对人类某个体,武器化将非常复杂。

3. 施放工具和方式千变万化　如同上述武器化,施放工具和方式应视战剂种类和靶目

标物等而定，随机应变。若针对某人群施放人制人新种病原体，很可能先选择靶目标区能成为临时携带此战剂之某类动物作为易感动物；诚然欲达此目的，需经反复试验。而且，此种动物应便于隐蔽携带，便于施放；同时又需生存力强。若针对人类某个体，施放过程将非常曲折，十分复杂。

4. 使用目的已超越军事 和传统基因武器相比，在未发生世界大战之情况下，使用当代基因武器之目的主要不是军事企图，而是重要的恐怖威胁、政治和地区或国际战略之需求。虽然，战争或军事动作是完成政治任务之重要或最后选项；但其明目张胆，暴露于光天化日之下，易受别国和世人之谴责。若采用当代基因武器，则隐蔽，难于取证；即使提供学术证据甚至病毒和动物等实证，亦可百般抵赖，阻止和压制，使国际组织和正义人士无可奈何。

5. 实施的影响因素和后果严重而难测 不言而喻，由于当代基因武器之战剂超现代，故造成的灾难十分严重。然而也由此，限制其效果之社会与自然的影响因素远较传统武器多，故结局不如后者明确。因为，其影响在地区上，不仅和靶目标国家或地区有关，而且和其周边国家甚至洲、全球有关；在事务上，不仅涉及人群健康，更涉及政治、军事和经济等；在时间上，很可能相当长远，如施放“人制人新种病毒生态型基因武器（生态型基因武器，见下）”，造成人为疫源地或局部流行区，则可维持几年、十几年、几十年甚至更久，直到消除或消灭。

若恐怖主义者针对某人群实施人制人新种病原体攻击，可以从目前掌握的相关学术理论推断：①由于武器制造者尚不可能在靶目标区内进行试验，也不可能在人体、至少不可能在人群内进行试验，因此，无法准确预测其流行强度和分布；②也无法控制其流行过程和结局；③其必然引起广泛流行，越过省界甚至国界、洲界（生态型基因武器，则需视其贮存宿主分布状况）；④而上述这些，均为靶目标区、周边国家甚至全球社会和自然因素所左右；⑤人制人新种病原体在人群内之进化规律及其所致传染病之流行过程，将和同类或相似传染病、甚至所有人类传染病虽有许多相似之外，但必然具某些本质的区别，经艰苦而细致、复杂而曲折的多学科协作研究，最终必然为正义的学者和人们所识破。假的真不了；非自然进化之生物，即使模拟得天衣无缝，和自然进化之生物比较，仍然存在许多无法抹去之差异。正如我国古训：“若要人不知，除非己莫为”。这是不以任何人意志和力量所能转移之人类社会乃至整个宇宙的发展规律。

第二节　当代基因武器的发展过程——破解其攻击之难度几近极限

由上章可见，传统基因武器和当代比之，主要存在两个弱点。第一，因前者虽按生物属性和技术可分为四类战剂，但均为自然界存在之物种。其可使非致病微生物诱变为致病菌，

或使原有病原体毒力与传播力成倍增加和/或产生难以治疗之抗药性，或制造传统检测方法不能发现或常规疫苗不能预防之改构病原体，甚至经基因重组建成嵌合病毒，等等。但由于其为自然进化之病原体或生物体，万变不离其宗，在病原或病因学、分子生物学、临床学和流行病学等诸方面均和原有物种有程度不同的相似之处，所以，侦、检、消、防、治等处置和应对，虽不如原有物种武器化战剂容易，但难度并非很大，更不是无法解决。第二，其施放方式和其他生物武器相似，易为卫生流行病学工作者和核生化防护人员甚至公众所熟知：如利用包括飞机、炮弹、火箭弹等大型甚至巨型投送装置或包裹、邮件、信件等中小型各种工具，喷洒或携带释放或直接释放气溶胶战剂等。虽然此类手段，尤其前者看似十分先进、技术高超，实质易于发现和识别，可迅速应对。而当代基因武器则高明得多，使靶目标区意想不到、防不胜防，甚至思想混乱、不明真相；更不堪设想和令人痛心的是，可能个别人盲目地认为现在不具备生产和施放"当代基因武器"的企图和条件，其结果无意地、或多或少地妨碍了对基因武器施放来源之查寻。对于后者，似乎不可想象，尤其是善良的、爱好和平之民众；但现实即如此残酷！因为在恐怖主义者脑袋里装的唯有"威胁""利益""扩张"！为掌握这些"威胁""利益"和"扩张"，其可不择手段；犹如20世纪上半叶日本侵略我国时包括所谓生物专家和军国主义分子在内的臭名昭著的"731"部队。

因此，对当代基因武器的发展和研制，我们一定应保持清醒头脑，密切跟踪和关注，并亡羊补牢，设法应对。为深入了解当代基因武器，先应回顾传统基因武器之某些案例。对这些案例之分析，不仅能了解传统基因武器之研制、使用、结局及其最初企图，且能提高对当代基因武器发展背景、宗旨和创制及其应用方式之认识。

2001年9～11月美国"炭疽邮件"之生物恐怖袭击事件（图4-1），可能是国际周知发生较大的亦最典型之传统基因武器施放案例。从9月18日开始的2个月左右，共发现22名病例，其中确诊18人；发病者主要为接触过邮件及其炭疽粉末邮政或有关人员；死亡5例，病死率为22.7%（5/22）。

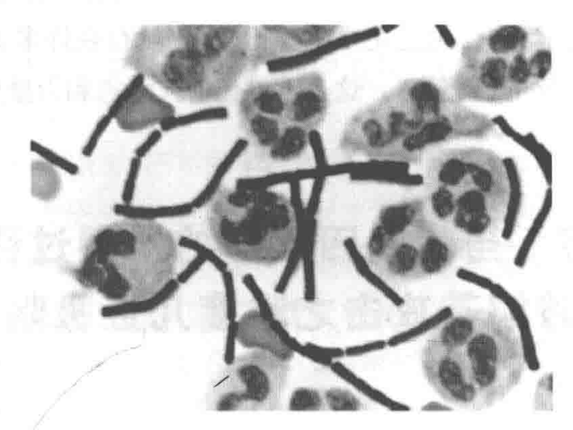


图4-1 2001年美国炭疽信件攻击事件中，记录在案的第一例炭疽患者之脑脊液。竹节形革兰阳性杆菌和多核白细胞（革兰染色；原始放大，×400）

［引自：Bush LM，et al. Ann Intern Med. 2012，156（1 Pt 1）：41-4.］

令人惊奇的是，此事件虽然发生在科技高度发展、对包括生物武器和基因武器生物恐怖之防控研究属国际顶尖水平以及应急能力一流的美国，但调查持续相当长时间、涉及面非常广、过程极其曲折：袭击事件发生至“形式”上的结案达6年多，即2008年8月6日，美国联邦调查局（FBI）声明：布鲁斯·埃文斯（Bruce Ivins）是筹划和实施此次“炭疽邮件”生物武器攻击之唯一罪犯，然而他已于结案前9天（7月27日）自杀。布鲁斯·埃文斯为美国陆军传染病医学研究所（the U. S. Army Medical Research Institute of Infectious Diseases，USAMRIID）之微生物学专家，他领导一个科学家团队，研究炭疽的疫苗和预防措施。然而，对FBI声明，遭到许多科学家和其他人士的普遍质疑：充其量，虽有证据，但却无法充分实证其细节。为此，FBI又不得不收集材料，进一步调查，并整理成正式文本；于2010年2月19日，即事件发生后9年，基于2700页文件，出版92页“调查总结（amerithrax）”。但FBI结论仍为：规划和执行恐怖主义行动的仅布鲁斯·埃文斯一人，确认信函中炭疽芽孢，和美国陆军传染病医学研究所布鲁斯·埃文斯实验室、由他开发和保存独特的炭疽芽孢基因上相关；同时表示，调查超出了科学证据，包括访谈和其他信息。但是，这些文字仍不能服众。继之，应FBI的要求，2011年2月15日由国家科学院（the National Academy of Sciences）成立专家组，独立评估炭疽芽孢的遗传分析。有趣的是，专家组认为：由FBI提出之科学证据，不足以证明埃文斯是“炭疽邮件”生物武器攻击事件之罪魁祸首。因此，仍不能确定此事件之攻击者为何人！

直至最近，官方文件承认，在埃文斯实验室“要间”（hot suite）密封区未见将炭疽液转为精细粉末之设备，且当时（2001年）该室尚无生产信件内炭疽芽孢（anthrax spores）之装置。但因布鲁斯·埃文斯已自杀，故无法做出关于有罪或无罪的判决。

更有甚者，仍有科学家专门撰文非常具体地一一质问：FBI未发现下述关键科学学术问题的确实证据和应调查却未调查的要害之处。

1. 何处和如何制备攻击信件的炭疽芽孢？至今未见物证证明何处制备了攻击性炭疽；未见直接的证据表明，任何特定的个人制备或邮寄了攻击性炭疽。而令人不解：FBI却未调查最可疑的实验室。

2. 如何和为何发现芽孢粉具高水平的硅和锡？对信函内粉末之添加剂，FBI回答含糊、混乱；而有学者明确认为，芽孢外壳存在锡催化的有机硅涂层（silicone-coated）。

3. 何处使炭疽芽孢污染了罕见的枯草芽孢杆菌菌株？FBI从未定位该菌株的来源。而同样令人不解：FBI从未在最可疑之处进行探寻。

从上述过程可见，迄今关于2001年美国“炭疽邮件”生物恐怖袭击事件之真相仍是个谜，或一团乱麻。其实，此仅为表面现象。因为，若我们应用现代先进的哲学方法，进行逆向思维，即能得出可靠结论：没有“结果”即为真实结果，不能解开之“谜”才是最终谜底、才是事实之真相！这才是恐怖主义者需要之结果，才是恐怖主义者欲达之目的，才是恐怖主义者

设计之精髓所在:既能发动袭击,又不会使公众知道真相。换言之,恐怖主义者从袭击一开始,即抹去了所有真相!

由此,读者和公众细细思索或历史地、客观地、比较性地深入分析,即可获得如下两点非常宝贵之结论。

(1)*美国"炭疽邮件"袭击事件深层次真相可能永无见天之日*:由上可见,此次生物恐怖袭击事件之发生非同寻常;对其幕后之策划甚至实施攻击者,全球任何团体和个人在任何时候任何场合均查寻不到。其个中缘由,稍有头脑者一想便知。唯一结局为湮没在历史长河之中,犹如人类社会近代、现代史上,某些大人物甚至总统遇刺案之真相几十年几百年尚未破解一样;也如 SARS 流行和 SARS-CoV 之来源:本书虽在学术上详细地证明了 SARS 流行规律不符合迄今人类传染病之流行自然史;SARS-CoV 之起源为非自然:流行中发生逆向进化,其不存在贮存宿主,未见直接祖先。然而,谁是始作俑者?直接祖先必然存在,但现在何处?可能又将成为另一个历史之谜!

(2)*应对并破解当代基因武器攻击之难度几近极限*:当今世界大多公众均能认识到:战争是政治之延续,是解决国内外分歧之最终选择,也是恐怖主义者灭绝人性之最后一招。由此可见,基因武器,尤其当代基因武器作为极大杀伤力且又十分隐蔽之工具,必将服务于诸多领域之恐怖或威胁目的,故其使用与否、使用时间、地点和方式非常隐秘,可能仅限于恐怖主义者最高决策层数人,甚至可能具体执行和实施者亦不知其手中为何物。而美国"炭疽邮件"使用的战剂,仅为常用之传统基因武器——炭疽芽孢粉末,施放方法亦仅为十分普通之邮寄——气溶胶,尚且如此无果而终;故具上述特点、较"传统"复杂百倍之当代基因武器,则更难以识破。所以,我们应熟练了解和掌握当代基因武器"超级"或"超现代"特性,随时跟踪其进展;若一旦发生,在应对时,则应理论和实践相结合、宏观和微观相结合,应用非常规之思维方式!

上述两点结论非常重要,是促使笔者增写本章的原因之一。

第三节　当代基因武器的研制手段

本章之首,即已指出,最近二、三年发表的学术文献,尤其在收集资料过程中发现的某些解密发展生物武器文件内容,令笔者极为震惊:近 10 年内,从包括 2001 年美国"炭疽邮件"生物恐怖袭击事件在内的先进"传统基因武器"至"当代基因武器"的发展,和解密之发展生物武器文件内容非常匹配,即 21 世纪国际上基因武器之研制和施放,基本上按这些文件框

架甚至细节进行或实施。可见，生物恐怖主义者或生物恐怖主义研究者多么“高明”!! 从以下介绍之内容可见，他们是如何构思和研制愈来愈先进、愈来愈隐蔽、愈来愈具针对性的基因武器，将“传统基因武器”推进至“当代基因武器”阶段，即人制人新种病原体和致病基因武器化及其施放的阶段!

在此，笔者主要介绍由某国空军某某大学空军某某学院上校迈克尔·安尼斯可夫(M. Ainscough)于2002年4月撰写的第14号防扩散系列文件——“下一代生物武器:基因工程应用于生物战和生物恐怖主义”，此文件(简称安文)解密时间可能为2012年12月28日。读者在此，顾名思义即可知，此文不仅对其上司十分重要，而且也是公众与学者了解和研究“生物恐怖主义”和当代基因武器必不可少之资料。

对于本章，安文中有关“提高生物威胁(效果)的6种手段(Six Paths to Enhance Biothreats)”内容最有价值，为能使读者原汁原味地了解这些早在12年前成稿、为防止生物恐怖主义之袭击而介绍的、研制基因武器触目惊心的技术路线，笔者编译其主要内容，通常放在标题下第一段且为粗体字，同时为叙述方便或逻辑推理需要，也放在后面段落内，但总冠以安文字样并选用粗体字；然后结合介绍国际上近期公开发表文献的有关内容和方法，进行分析评论如下:

一、二元生物武器

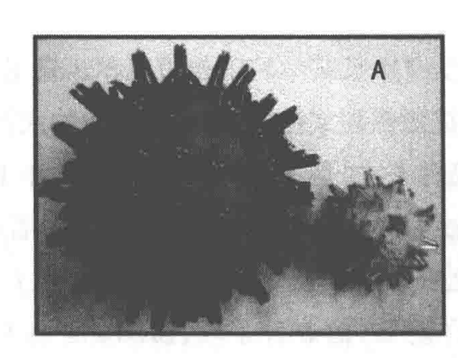
二元生物武器(binary biological weapon):为双组分系统(two-component system)，由无害或少害或毒力不强或传播力不强等相互部分混合后，形成一种危害严重的病原体或其产物进行使用，如炭疽、鼠疫、痢疾等，均通过此方式产生含某(些)质粒之病原体，增强其毒力。此类过程在自然界即能程度不同地发生；但其亦可应用生物技术在实验室内人为实现，且可跨越物种屏障。

在国外公开发表的文献中，2002年已有实验报告，应用基因融合技术构建黄热病病毒-A型流感病毒之嵌合病毒(图4-2)。该作者根据融合的不同pH条件及其核衣壳不同的可塑性，创建一个双基因组包膜结构；这种嵌合病毒颗粒，最初命名为PVQ；其在不同的组织细胞培养系统内，感染特性不同:当PVQ接种细胞时，其表现类似于黄热病病毒感染。看来，在安文发表的当时，不仅恐怖主义者在秘密实验室研制生物武器；而且，公众开放的研究机构也能创建二元生物；诚然，前者必然走得更远!! 因为，下段文字足以证明此点。

安文认为，二元生物武器的制造，可将两个组分按要求的量各自独立生产，仅在相应生物武器部署之前，将两者混合；更令人惊讶的是，也可在武器发射之后的运输/飞行期间，两者混合成战剂，打击靶目标。安文还指出，当时已有人掌握此技术。

由上可见，此类二元生物武器尚属于传统基因武器，如美国“炭疽邮件”生物恐怖袭击战

剂尚不能排除在制造过程中使用上述技术。虽然如此,在了解和防控当代基因武器时,还需认识这类战剂及其生产方法,因为目前或未来使用的当代基因武器,部分工艺操作必然建立在其基础之上。



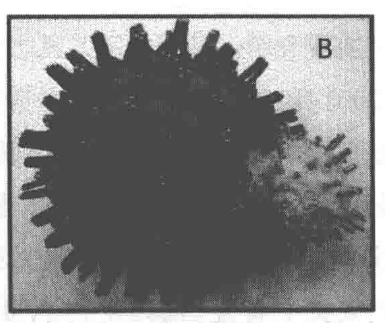


图 4-2 基因融合技术构建黄热病病毒-A 型流感病毒嵌合病毒

注:A. 大颗粒为 A 型流感病毒,小者黄热病病毒;B. 嵌合病毒:黄热病病毒外壳突起已改变

(引自:Oliveira BC, Liberto MI, Barth OM, et al. Construction of yellow fever-influenza A chimeric virus particles. J Virol Methods, 2002, 106:185-196.)

二、设计特定基因

设计特定基因(designer genes):由于人类基因组研究破译人体 DNA 的密码,提供了基因分子结构;而且当时(2002 年 4 月)已知 599 种病毒、205 种自然发生的质粒、31 种细菌、1 种真菌、2 种动物和 1 种植物基因组的完整序列。

这些原为有益于人类健康之科技成果,而恐怖主义之生物武器制造者也视之为宝贝。**"安文"特别指出,微生物学家由此合成基因,合成病毒,甚至完全新的生物体(complete new organisms)(新物种),仅是时间问题。**在此,实际上暗示研制如 SARS-CoV 之人类新品种病毒并非难事。

可以研制完整病毒。如,"仿照流感病毒的自然变异"(analogous to the natural mutation of the influenza virus),创造一种新流感病毒株。读者应该注意,这些生物武器种类之恐怖主义谋划者或"专家"绝顶"聪明":仿照"病毒的自然变异",可使受害者和正义之学者难以识别此类战剂造成的流行是新发传染病抑或"当代基因武器"。其实,从彻底的唯物主义者视之,此种伎俩仅是没落阶级之唯心主义的一厢情愿,正如我国的古训:"欲盖弥彰"。例如,SARS-CoV 之研制及其引起的全球范围内 SARS 流行,应是经某些恐怖主义者精心地长久地无所不用其极地策划和实施,但最终还是被我们应用传统流行病学理论和实践之结合、宏观和微观之结合、科学技术和哲学思维之结合还原了其真实面目。当然,我们应牢记中华民族先辈之思想精髓:"道高一尺,魔高一丈",更加关注这些恐怖主义者研制"当代基因武器"之

发展动向，做好应对更加新型、更为“自然进化”化“基因武器”之各种准备。

生物武器制造者（bioweaponeer）对于生物武器之设计和研究，真是绞尽脑汁。他们根据微生物之日新月异基因组数据库，**制作并随时补充完善“部件表（parts list）”和规格参数表；一旦需要时，可挑选最致命的“部件”，经“套件安装”，以最快速度，从零开始创造一种全新的生物。甚至，有些小的动物病毒原则上可以机器合成（machine-synthesized）。**

安（2002年）还在此文预言，**对于支原体——已知最小基因组的细菌，可能在不久的将来可完全人工合成，并将其作为候选的生物武器。**安上校实际在此处提示：动物病毒可完全人工合成！

安上校（2002年）又在此处透露：**“挑选最致命的‘部件’，经‘套件安装’，以最快速度，从零开始创造一种全新的生物”，此种技术“可能会超出多数生物恐怖分子的”所掌控和拥有的全部能力。**由此，读者稍加思索，即可判断：这位上校在2002年已非常明白：多数生物恐怖分子当时是不可能“人工合成动物病毒”！那么，谁能合成？不言而喻：某些掌握此技术之生物恐怖分子！！

安上校在文中有意无意提及的下述一句，更令人寻味、更应加以关注：**“上述某些技术可专门运用于生物战或恐怖主义目的（Some of these could be specifically produced for biological warfare or terrorism purposes）”。**在此，关心我国国防安全和人类和平的学者与人士，不难发现其深层次含义，即将安上校2002年此种表述可解读为：①将“生物战”或“恐怖主义”并列。②“恐怖主义”者为达到恐怖威胁之目的，利用这些技术，合成病毒，甚至完全新的病毒品种；而有能力的“生物恐怖分子”，可用之制造“当代基因武器”，发动有形或“无”形之“生物战”。③由于“生物战”或“恐怖主义”之结局相同或大同小异，人们难以区分；犹如美国“炭疽邮件”生物袭击事件不知所终，不能锁定真正的元凶，唯有不了了之。在此，又可联系非典，前10年确实是“不了了之”了；甚至现在包括学者在内相当部分公众，仍感是“不了了之”了，因“无”证据，虽内心怀疑或不服。所以，生物恐怖分子得意忘形，愈加放肆（见下）。

三、基因治疗作为武器

基因治疗作为武器（gene therapy as a weapon）：基因治疗，是以更换或更换缺陷的基因，使人的遗传组成发生永久性变化，以治疗某些疾病，有益于人类。然而，生物武器制造者却可以反向使用，插入致病基因。

基因治疗分两大类：生殖细胞系和体细胞系治疗。生殖细胞DNA的变化均将遗传至下一代，体细胞DNA的变化只影响个体。一类实验载体病毒，如逆转录病毒（HIV可代表）、痘苗病毒等可永久性整合进人类染色体。然而安文认为，目前（2002年）无法非常有效地将其导入人体组织细胞；但一旦科学技术更加完善，最终可能以类似的载体将有害基因插入到某

一不知情的人群。

多么可怕的情景！更可怕的是，安文发表后12年之今天，此类技术可能早已成熟。仅善良之学者和公众无法相信、更无法证实！因为生物恐怖主义者为达到不可告人之目的，不择手段，有恃无恐，丝毫不怕被人揭穿！

四、隐形病毒或特殊DNA片段

隐形病毒(Stealth viruses)或特殊DNA片段：隐形病毒，指一种具特殊感染途径和过程的病毒。其由不为人察觉之特殊感染途径进入人体细胞或其基因组，然后保持休眠状态相当长时间，直至外部给予之特殊刺激信号触发，使之激活而引起病毒性疾病。

特殊DNA片段，指某种病毒或某种癌基因的DNA片段，经过上述类似于隐形病毒进入机体之途径和过程，使目标人(群)体最终发生癌症。此种病毒或癌基因的DNA片段，实际为实验证明其能启动某些癌细胞生长。

安文指出，事实上人群在自然状态下类似于隐形病毒之致病机制和过程也不少见。例如，许多疱疹病毒携带者在适当条件或状态下，该病毒可被激活，引起口腔或生殖器病变。再如，早期患过水痘之某些个体，该病毒实际处于隐伏状态，在适当条件下，将产生(水痘病毒)带状疱疹。

生物武器制造者又将隐形病毒和特殊DNA片段用于两种新型基因武器研制：

(1)隐形病毒基因武器：以适当方式施放隐形病毒，使其“无形”地感染靶人群(个)体的某种细胞基因组。此后，在需要攻击之时刻，施放特异性激活剂，使该战剂启动发病过程，造成该病毒性疾病之流行。所以，此类型基因武器适于其独特之战略需要，可使生物武器使用者作为一种有力的(战争)威胁手段，和靶人群之高层进行长时间的讨价还价。

(2)致癌基因武器：上述能启动某些癌细胞生长之病毒或癌基因特殊DNA片段，经各种“无形”手段进入靶人体后，即可开启该(或某些)癌症的野生细胞无限制地迅速生长和增殖，促成该(或某些)癌症的发病。

此两种新型基因武器，对我们普通民众似乎是天方夜谭，但确为生物恐怖主义者梦寐以求。尤其第二种，即“致癌基因武器”，是否已经制成并试用，不得而知；但据报道，某总统患癌多次治疗后曾质疑，多国总统均患癌，是否人为所致?！当然，他这种言论，可能非空穴来风；也可能读过虽为密件但2002年即成稿的安文，甚至更多的机密资料和行动计划等。后来，其因治疗无效而逝世。此事难以见证，正如本章已多次强调，2001年发生在美国这种科技大国的作为“传统基因武器”之“炭疽邮件”群体生物袭击事件，至今未能打开黑匣子，自然不必论及“当代基因武器”个体生物袭击案例。

五、跨宿主疾病

跨宿主疾病(host-swapping diseases):自然界中,和细菌不同,动物病毒能明确完全适应的宿主种类通常不多,仅一个或几个物种。当某种病毒在一类动物内生存、繁殖、传代时,后者即为其原始贮存宿主;但该病毒传染给人类引起发病后,则此病被称为“人畜(兽)共患传染病(zoonotic disease)”。可见,动物病毒往往需要自然的贮存宿主(动物),并在该地区长期存在,但危害不大或没有危害。……当这些病毒“跨物种(jump species)”传播,有时可能会导致严重的疾病。由此说明,处置的传染因子(manageable infectious agents)或病原体,可以自然地(naturally)[请读者注意,安文在此用的为“自然地”,指人为研制时,可像“自然进化”一样,以使人们难以区分其为“自然”和“非自然”起源;也从侧面证实了生物恐怖主义者早就注意“自然”地研制人工新品种病原体,并非如有些学者认为的现在还不具备条件。]改造成具强烈毒性的生物体。

为使读者便于理解安文此段内容,现将本书第一章已描述过的有关理论再次扼要介绍:这些病毒引起的人畜(兽)共患病,在我国传统上称自然疫源性疾病,病原体可在自然疫源地内世代循环,而不依赖于人类;这些病原体及其适应的、可作为贮存宿主之某种(些)动物,均可在此景观中随历史长河延续不断地生存、相互作用和协同进化。当人们进入此自然疫源地,偶尔可受其感染发病;由于这些病毒不适应人类,因此病情危重,病死率很高[即为上述“跨物种(jump species)”传播]。但随着携带该病原体之宿主野生动物和人类与家畜接触频率增加,在其和家畜和/或人类新宿主相互作用的过程中,对后者将逐渐适应;由此不仅家畜与人类之病情相应减轻,而病原体传播力增强,即感染率将相应增高;而且继后的循环往复,这些病毒对家畜与人类将更加适应,将出现包括城市在内的各种继发性疫源地。

安文也非常简短地描述此种过程和开发为基因武器之前景:当这一切自然地发生,结果出现一种新的疾病。如果是由人引起的,它将为生物恐怖主义。在有能力、决心和资金帮助生物恐怖分子的实验室,一种动物病毒可能是由基因改造和专门开发制成,并感染人群。新出现的这些疾病,可能为生物战或恐怖主义应用的出人意料之严重后果。在此,读者通过安文的这些描述,可不难理解:非典病毒为何可以于2002年非自然起源,即人为产生。

然而,安文并未介绍事物的另一方面,可能其仅论述基因武器之威胁(题目即为“威胁”),不必提及其不足或被人破解;也可能其专业侧重于基础学科,而对流行病学不很熟悉。但我们则旨在防控基因武器,故必须在联系本书第一章某些内容的基础上,强调如下:和在几年或非常短的时间内“生物恐怖分子的实验室,一种动物病毒可能是由基因改造和专门开发制成,并感染人群”之基因武器相反,在自然状态下,跨宿主或跨物种的病毒或其他病原体需经历相当长时间(可参考本书举例之HIV之进化历程),常为几百年,短者至少几十年、

十几年,长者需千年！可见,此种病毒或其他病原体自然进化时间长短之规律,对于我们流行病学工作者十分重要,因为可借此判断是自然发生的流行抑或基因武器导致的流行。这也是生物恐怖主义者之致命弱点:其可以如上述他们设想的、尽量“仿照 XX 病毒的自然变异”,使其产生的战剂和自然进化之病毒或其他病原体非常相似、难以鉴别,但这些生物恐怖主义者再“聪明”或再凶狠,也无法抹去大自然中生物自然进化所需之时间跨度和基因序列进化的印记！这也是他们无法扭转的宇宙发展规律！也正是大自然赋予我们战胜邪恶之有力武器！

安上校虽在文中也列举一些自然发生的例子,但未、也不可能提及人工跨宿主或跨物种之实验方法。然而 2002 年之后,已公开发表了关于此类方法的一些论文。典型者应为甲型 H5N1(禽)流感病毒(经基因改造结合动物模型连续传代后在雪貂群体中具空气飞沫传播能力)之 2 篇学术论文,后者应在 2011 年分别在国际顶级杂志《科学》和《自然》上发表,但某些机构和人士考虑这 2 篇论文发表是否将为生物恐怖主义者研制有关生物武器所利用,因此在全球有关学术界、WHO 和相应管理人员内进行了近一年争论后,分别将主要研究成果以报告(REPORT)和信(LETTER)的形式最终于 2012 年在《科学》和《自然》上发表。2 篇论文均应用基因改造结合动物模型连续传代技术,将原仅在鸟或禽类内能进行空气飞沫传播之甲型 H5N1 禽流感病毒(A/H5N1 AIV),在实验室内制成能在最接近于人的动物模型-雪貂(群体)内实现空气飞沫传播(air-borne and droplet transmission)之 A/H5N1 AIV(本书暂称其为“雪貂-实验型空气飞沫传播-A/H5N1 AIV” 或 f-Eat-A/H5N1 AIV);同时多数学者认为,雪貂内空气飞沫传播之 f-Eat-A/H5N1 AIV 通常即能在人群内经同样途经传播和流行。可见,从 f-Eat-A/H5N1 AIV 至致人群广泛空气飞沫传播之 A/H5N1 AIV(暂称其为 h-at-A/H5N1 AIV)仅一步之遥！

然而,关注人类安全的流行病学学者很清楚以下几点:①A/H5N1 AIV 自 1997 年香港人群内流行并于 2003 年出现第二波后,已逐渐在东亚、南亚、阿拉伯爆发并传至欧非两大洲之个别国家,且相当长时间以来,此病原体已具在家庭内有限传播(不能除外为经高浓度、高密度近距离之飞沫传播),因而,从传染病流行病学自然史推测,在自然进化状态下,经 A/H5N1 AIV 和人类相互作用,前者必然最终能获得在人群中广泛空气飞沫传播之能力,唯需经相当长时间,是远非在实验室内完成时间能与之相比较:前者应为后者几倍、几十倍甚至更长;当然,当 A/H5N1 AIV 自然进化至此状态时,可能其传播力增强,毒力将降低。②科学家进行此类试验之目的,在于探索 A/H5N1 AIV 适应人类之过程和条件,以届时或事先采取针对性之防控措施;然而,正如上述提及的争论一年之焦点:该技术方法是否将为生物恐怖主义者研制有关生物武器所利用。实际,纵观人类社会发展史,尤其是科技发展史和战争史及其相互间的关系,答案应十分明确:每种新技术发现之后,立刻被应用于战争,无一例外。

因此，生物技术亦不可避免。③更需将一层纸捅破：虽然有关生物技术是否为恐怖主义者所利用之问题，煞有介事地在国际学术界进行了近一年的讨论；其实，各类生物恐怖主义者均心知肚明：此类基因改造结合动物模型连续传代方法甚至更为先进更为高超技术，早已被他们应用于生物武器和基因武器之研制；从本章上述介绍的事实也足以证明！

为知己知彼，在此将2012年《科学》和《自然》上发表的这2篇论文之主要基因改造方法，做以下介绍。Herfst S等在《科学》的题为“甲型H5N1流感病毒在雪貂间空气传播”文章之主要技术路线如下（图4-3）。

（1）将甲型H5N1流感病毒进行基因改造，诱变为A/H5N1$_{HA\ Q222L,G224S\ PB2\ E627K}$重组株（图4-3左列“传代试验”中$P_0$）。

（2）再将该株在雪貂（鼻内接种）连续传代，以适应在雪貂群体内高效复制，获P_{10}株（图4-3左列“传代试验”中P_{10}）；即经上述初步的基因改造和连续传代试验，甲型H5N1流感病毒P_{10}株已具感染新宿主雪貂并在其体内生存繁殖之能力。

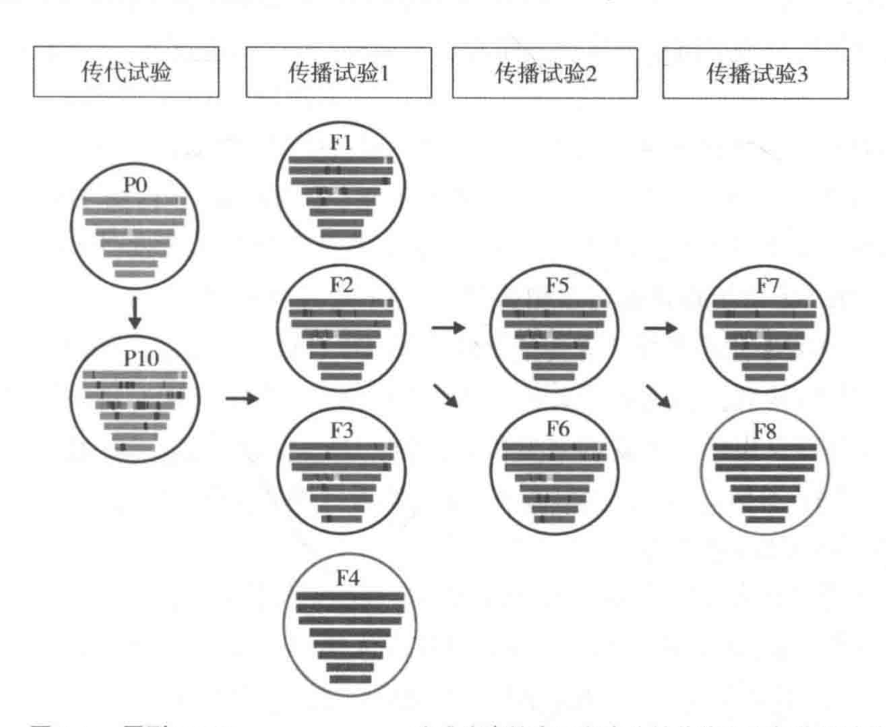


图4-3 甲型H5N1$_{HA\ Q222L,G224S\ PB2\ E627K}$流感病毒株在雪貂内连续传代和空气传播试验

①图内主体部分每个圆均代表不同种或株之甲型H5N1流感病毒；②圆内流感病毒之8个基因片段（横向长条），按从上至下之顺序分列为PB2，PB1，PA，HA，NP，NA，M，N；③圆内8个基因片段不同颜色代表流感病毒之不同种或株：蓝色，橙色，红色和灰色，分别为最初A/H5N1$_{HA\ Q222L,G224S\ PB2\ E627K}$重组株（$P_0$），雪貂传代-10毒株（$P_{10}$），在雪貂中具空气传播能力的$P_{10}$病毒株，和在雪貂中未具空气传播能力的病毒株；④圆内病毒8个基因片段中，黑色粗和细的垂直（竖向短条）条带，分别代表氨基酸和核苷酸替换；黄色为通过反向遗传学引入之替换；绿色为P_{10}以及随后传播试验中的替换。

（引自：Herfst S，Schrauwen EJ，Linster M，et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. Science. 2012，336(6088)：1534-1541. 稍加改动）

(3)筛选 P_{10}病毒在雪貂群体中空气传播力强的株,进行系列传播试验。①传播试验 1:鼻内接种 4 只雪貂,然后分置在 4 个传播笼里,每笼各搭配 1 只易感雪貂。结果从 4 只易感者中,3 只分离到具传染性的病毒(F1-F3,见图 4-3 左第 2 列“传播试验 1”)。②传播试验 2:将病毒滴度最高 F2 之雪貂的咽拭子样本,鼻内接种另 2 只雪貂,其余操作同上;结果搭配之 2 只易感雪貂均经空气传播受染(F5 和 F6)。③传播试验 3:将 F5 病毒经 MDCK 细胞传代一次后,滴鼻接种 2 只雪貂;结果 2 只易感雪貂内 1 只受染(F7)。

(4)经进一步实验证明,上述所获雪貂-实验型甲型 H5N1 流感病毒空气传播株(f-Eat-A/H5N1 AIV),对抗病毒药物——奥司他韦敏感,且与 H5 流感病毒亚单位疫苗株抗血清起反应。

因此,Herfst 等的研究显示,不需再经其他宿主体内重组等长时间之自然进化,禽流感 A/H5N1 病毒可以在实验条件下获得在哺乳动物间进行空气传播的能力。

而 Imai 等于 2012 年发表在《自然》之 Letter 的主要技术路线及其分析如下(图 4-4)。

(1)*构建病毒库和筛选相应毒株*:病毒库应包括 H5 N1(禽流感病毒)/H1N1(2009 年大流行株)重组株,尤其是 H5 HA/H1 N1 之 7 基因(PB2\PB1\PA\ NP\NA\M\N)的多种重组株,并针对其和人类呼吸道组织受体位点结合之有效性,进行初步筛选,选择最适宜的重组株(图 4-4)。

(2)*雪貂动物模型内传代,进行系列空气传播试验*:进一步筛选在该群体中具有效空气传播能力之 H5 HA/H1N1 重组毒株。主要步骤如下:①传播试验 1:将 H5 $HA_{N224K/Q226L}$/H1N1 重组毒株感染 3 只雪貂,结果失败,病毒分离和抗体检测均呈阴性(图 4-4)。而同时将 $HA_{N224K/Q226L}$/H1N1 重组毒株进行雪貂传代,在 HA 基因中出现一个新的突变位点,获得 $HA_{N224K/Q226L/N158D}$/H1N1 重组毒株。②传播试验 2:将 H5 $HA_{N224K/Q226L/N158D}$/H1N1 重组毒株感染 6 只雪貂,结果有转机,2 只病毒分离和 5 只抗体检测呈阳性。又同时将该重组毒株进行雪貂传代, HA 基因又出现一个新的突变位点,获得 $HA_{N224K/Q226L/N158D/T318I}$/H1N1 重组毒株。③传播试验 3:将 H5 $HA_{N224K/Q226L/N158D/T318I}$/H1N1 重组毒株感染 6 只雪貂,显示最佳效果,4 只病毒分离和 6 只抗体检测呈阳性。

(3)进一步研究表明,该重组株不仅能在雪貂群体内空气传播,且使其患临床疾病,尤其是肺部病变,但不严重,并不引起死亡;同时其亦能和人体呼吸道组织受体结合。

(4)由上可见,不必在自然界进化,经基因改造结合雪貂动物模型连续传代之实验方法,即将禽流感病毒 H5 N1/2009 年大流行株 H1N1 两种甲型流感病毒进行重组,再分阶段在雪貂群体内连续传代,即能获得在雪貂群体内具空气传播能力之 H5 $HA_{N224K/Q226L/N158D/T318I}$/H1 N1 7 基因(PB2\PB1\PA\ NP\NA\M\N)重组株。

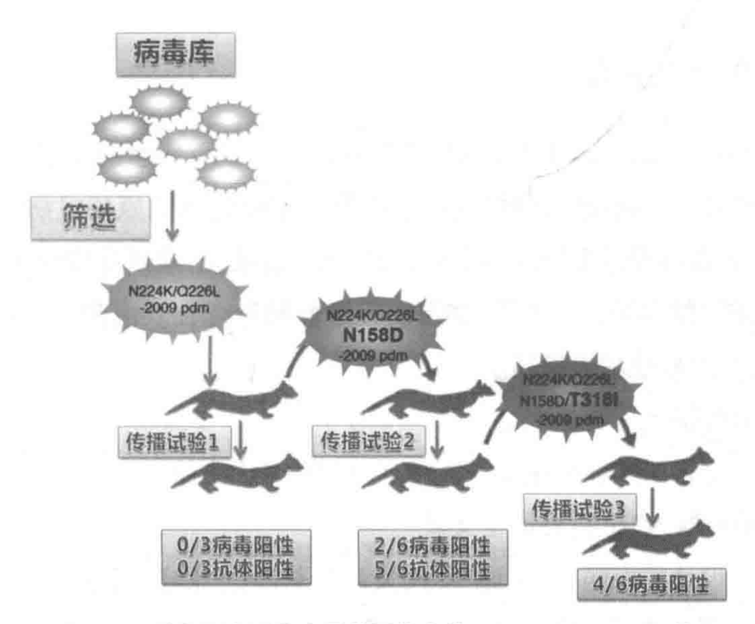


图 4-4 选择雪貂群体内具传播能力的 H5 HA/H1N1 重组株

星状物：为流感病毒或重组病毒，内部文字为不同的重组株名称；加弧形箭头之星状物：星状物之意同上；弧形箭头指向，表示从供体（或传染源）雪貂之病毒经一定途径进入受体（或易感）雪貂；动物标志：为进行系列传播试验之雪貂，其下之文字框内注明动物数量和病毒分离与抗体检测之结果。

（引自：Imai M，Watanabe T，Hatta M，et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. Nature，2012，486（7403）：420-428. 稍加改动）

根据上述两种研究方法，结合安文介绍“跨宿主的疾病”之技术思路不难发现以下几种情况。

（1）此两种方法进行比较，虽均应用雪貂动物模型连续传代-传播试验，但 Imai M 等在《自然》发表文章之技术路线和 Herfst S 等《科学》文章的有别：①Imai M 等是将 H5 N1/H1N1 两种甲型流感病毒进行重组；而后者仅用甲型 H5N1 流感病毒。②前者先建病毒库进行初步筛选；而后者通过反向遗传学引入之替换再在雪貂内连续传代。

（2）举一反三，可得出如下判断，不经自然界进化，在人为实验条件下，制造新品种禽流感病毒（AIV）A/H_X N_X不是难事，甚至纵观世界目前 AIV 流行之态势，不能除外作为当代基因武器的新品种 h-A/H_X N_XAIV 正在流行之可能性（见本书有关 h-A/H7 N9 AIV 之论述）。

更进一步设想，制造安文“跨宿主的疾病”新种病毒株，甚至可引起世界大流行的毒株（当然，此时其必然已具自身防护之准备），也有许多途径可循。这可能更令人担忧！

（3）虽然 Imai M 和 Herfst S 的研究均公开在实验室有经费资助下于 2011 年完成，然安文 2002 年即发表。可见生物恐怖主义者可能私下早已开展，甚至完成了武器之研制，且已悄悄施放。

（4）结合上述论点，请读者详细研究和客观分析本书有关 SARS 流行过程和起源之描述，必然能得出自己正确的、客观的结论。

六、精心设计的疾病

精心设计的疾病(Designer Diseases):由于细胞和分子生物学的发展,安文指出,我们已接近达到:可能提出一种假设疾病的症状,然后设计或创制此病原体或病原(因),并引起预期的复杂疾病。后者可通过多种途径实现,如关闭免疫系统,或诱导特异性细胞增殖和快速分裂(如癌症),或可能制造逆向效果,如启动程序性细胞死亡。由此,反映在进攻性生物战或恐怖主义的能力上呈数量级提高。

在此,可以明确如下几点。

(1)又将"生物战"或"恐怖主义"并列,且在"生物战"前冠以"进攻性";因此,无可非疑,生物战之发动者即为"生物恐怖主义者"。

(2)此类精心设计的疾病,和上述"专门设计的基因"、"隐形病毒"等基因武器研制方法十分相似,尤其是"隐形病毒"中的"致癌基因武器"、"个性化生物武器"。因此,安文虽将生物威胁方法归纳为6种手段,但不同技术之间均能互相协调配合使用,使其威力无穷。

(3)然而,此种研制方法亦有其明显独特之处:①不仅创制病因,而且关注整个疾病。②其引起的疾病不是常见病,而是"复杂疾病",故在临床上必然难以对付:不易识别、不易治疗。③其致病机制,主要利用人体免疫系统;而人所患之疾病,无论传染病抑或非传染病均和免疫系统有关,且涉及免疫系统本身组成成分之疾患,其诊断和治疗难度愈大,如艾滋病、胶原性疾病等。④从上述引述的一段文章之字里行间,不难看出:其靶目标和对象,主要是针对个人;甚至可推测,结合"隐形病毒"中的"致癌基因武器"、"个性化生物武器"等技术,直接是针对某些个体。

综上可见,迈克尔·安尼斯可夫上校2002年4月撰写的文章中有关提高生物(武器)威胁的6种方法,已十分全面系统,甚至可归属于"超现代"了!

在结束介绍安上校"提高生物(武器)威胁的6种方法"之前,指出一重要的"巧合"。出于对流行病学"时间分布"之敏感性,笔者很自然关注到此"巧合"。在完成"SARS-CoV为非自然起源且在自然界无贮存宿主"研究并成文后,因事关重大科学问题,我们即于2012年11月2日起,给国际权威杂志《科学》、《细胞》、《自然·医学》以及"WHO快报"等投稿,2012年12月21日转投《自然》。而迈克尔·安尼斯可夫上校2002年4月撰写的文章,却在2012年12月28日前后揭秘。两者之间之"时间分布"是否有联系,应为流行病学上的一条线索;在此提出,供有关学者参考。

第四节　当代基因武器的定义、分类和攻击特点

一、当代基因武器的定义

由上可见，当代基因武器的发展如此迅速，方法如此翻新，手段如此残酷，目标如此众多，结局如此难料！因此，我们必须给予其合适定义，以使学者乃至公众容易看清其本质，规范对其认知和做出针对性的应对措施。

笔者的定义：当代基因武器（contemporary genetic weapon），指应用不断发展的生物技术等实验手段结合动物群体性适应试验，对自然界病原体及其产物和动植物乃至人类之基因进行改造，人工产生危害人类和生物界或其某群（个）体之新的物种或致病基因并武器化。

此定义除了明确当代基因武器的研制方法、战剂性质和杀伤目标外，至少还强调了如下几点。

（1）当代基因武器，是利用高速发展着的现代生物技术等实验手段，经过一系列研究和试验，研制成一类无形或有形之特种高技术、靶目标大小不一、杀伤力极强或致命的武器。在此，“无形”主要指很隐蔽、极难认别其施放之方法、材料、地点和时间等，其施放者、研制者和策划者以及上述施放过程因种种原因无法揭示，最终可能不得不不了了之！

（2）基因武器是现代生物技术等实验研究之产物，其实际之含意为：①应用了所有可利用之现代科技，其中主要的为生物技术；②随着未来科学技术之发展，武器研制者将不断引入最新技术，如此循环往复，永无止境，直至被彻底制止；③因之，基因武器种类及其施放方式将不断更新、日新月异，学者和爱好和平人士应随时关注。

也由此，笔者上述的定义必将随着武器之发展而不断修改和完善。

（3）当代基因武器已不限于对自然界病原体及其产物进行改构，便于武器化和大规模应用，而是研制：①自然界不存在或尚未完成适应于人类进化的新品种病原体；②自然界不存在的非病原体，但可致人类损伤或死亡之生物新品种；③人体本身不存在的新品种致病甚至致死基因。

（4）当代基因武器已不限于既往致伤人类或生物界群体之战剂，而且可为：①特异性较强、针对某国或某地区适于其长期生存甚至世代循环，犹如“种植性”“自然疫源性”疾病病原体之战剂；②特异性极强，针对人类中某种族或某民族之战剂，但笔者推想，此类战剂研制和施放尚有诸多困难；③特异性极强，针对某个体之战剂。

二、基因武器的总体分类

至今,文献中对生物武器或基因武器之分类方式主要有两种:一种按其战剂的扩散规模和致病程度分类,另一种按其战剂的生物品种和性能分类。后者在晚近的论文、专著和网络上较常用,如将基因武器分为微生物类、毒素类、转基因食物类、转基因动物类等。

可见,目前常用的分类方法的优点在于简便,易于识别其使用战剂的生物种类。但尚有不足之处,其一,不易将基因武器和普通生物武器区别;其二,未涵盖施放方式之变化;其三,未显示其战剂之本质;其四,未反映投放后之动态过程和结局;其五,更重要的是,未展现目前飞速发展之基因武器研制技术。

根据对 SARS-CoV 非自然起源的多年研究积累,对我国 2013 年春突然发生的人感染 H7N9 禽流感(Human infection with influenza A H7N9 virus,h-H7N9 AI;人 H7N9 禽流感)的初步流行病学研究和对“中东 SARS (定义见下)”之初步比较性观察,以及对 20 世纪下半叶新发传染病流行之过程之探索,笔者感到基因武器及其武器化和施放方式已经实现了历史性飞跃,进入了生物武器发展史上前所未有之崭新阶段!

在目前 WHO 和相关英文文献中,大多将“中东 SARS” 称之为“the Middle East respiratory syndrome(中东呼吸道综合征),MERS”。笔者认为以“中东 SARS(ME-SARS)” 更好,并定义为:中东 SARS(the Middle East severe acute respiratory syndrome,ME-SARS):由中东呼吸综合征冠状病毒(the Middle East respiratory syndrome coronavirus,MERS-CoV)引起、中东为自然疫源地、动物为主要传染源、目前在家庭或医院具有限的人-人传播、和 SARS 同为一属且临床表现非常类似的新发传染病。其理由如下。

(1)SARS 为 severe acute respiratory syndrome 之缩写,译成中文为:严重急性呼吸道综合征;实际上,“中东 SARS” 也为急性,且临床症状较 SARS 更严重,病死率更高,但为何不冠以“严重急性”呢? 而实际早在英文论文中,MERS-CoV 所致病也描述为“severe acute respiratory infection (严重急性呼吸道感染,简写为‘SARI’)”,或“severe respiratory illness(严重呼吸道疾病)”故在“respiratory syndrome”之前不加“severe acute” 不合理。可能此定义者考虑到和 2003 年 SARS 区别,若如此,冠以“中东”即可区分。

(2)迄今,由冠状病毒引起的人类严重急性呼吸道综合征,主要为 SARS 和 ME-SARS,故若将中东严重急性呼吸道综合征称之为“中东 SARS”,便于归类和联系。

(3)SARS 和中东 SARS,虽然在临床上很相似,但后者病情更重;在流行病学上差异甚大。①时间分布:SARS 仅以 2002 年 11 月至次年 7 月流行为主,后除 3 起实验室感染和 2003 年 12 月至次年 1 月的广州 4 例爆发(广州爆发)外,再无病例;而中东 SARS,若按 WHO 确认之 2012 年 4 月起算,现已 2 年半余,流行趋势有增无减。②地区分布:SARS 呈全球性

流行，涉及29个国家和地区；而中东SARS，主要为地区性流行，受染集中于中东，除后者外，其他国家之病例均在中东受染后回国发病，为输入性或指示病例之第二代，结合其传染源种类和可能的贮存宿主，初步可判定中东为其自然疫源地。③人群分布：中东SARS病例之发病大多有相关动物之暴露史或家庭-医院聚集史；而西欧、北美等病例发病前均有中东旅游史或工作史，或家庭指示病例之接触史。而SARS则以华裔多见。④传染源：在SARS流行期间，人和果子狸均可为传染源；但广州爆发期间两者之传染性和传播力均明显减弱，流行之后，SARS-CoV即在人或果子狸群体内消失了，两者均已失去传染源之作用（但保存在实验室之SARS-CoV标本仍具传染性），故本书谓果子狸为SARS之"特定传染源"或"临时传染源"。对中东SARS而言，文献报告，除人类家庭-医院聚集内有限性传播力外，野生动物和家畜如蝙蝠、骆驼可能为传染源，已有分子生物学和流行病学证据。⑤传播途径和传播能力：SARS-CoV主要经飞沫传播和密切接触传播，但大陆和香港以及WHO先后证实，存在有限的空气传播；在流行早期的后阶段、中期和晚期的早中阶段以及我国2004年4~5月实验室爆发中，其传播能力非常强，产生了许多"超级传播者"；而中东SARS可能经飞沫传播和密切接触传播；但传播力不强。⑥流行强度：SARS罹患率高，能跨越国界和洲界，一年内发病患者数达八千多；而中东SARS除家庭-医院集聚外，基本呈散发性流行，罹患率低，发病人数不多：2年内才几百人。

(4)起源和进化：虽然SARS和中东SARS之病原体均属冠状病毒（Coronaviridae）冠状病毒亚科（Coronavirinae）β-冠状病毒属（Betacoronavirus）（图4-5），但其起源和进化之过程有非常明显之不同。

首先，SARS和中东SARS之病原体的进化速率差异很大。学者们均认为SARS-CoV突变速率快（详见本书第七章）。Song等2005年报道，狸和人SARS-CoV进化速率为8.00×10^{-6}替代/（位点·天）；我们测为7.33×10^{-6}替代/（位点·天）。这一、二年已见数篇报告MERS-CoV（中东SARS-CoV）进化速率的论文，在$(1.73\sim2.74)\times10^{-6}$替代/（位点·天），故与SARS-CoV差异大。前者为后者之2.9~4.6倍。显而易见，"中东SARS-CoV（ME-SARS CoV）"在进化上和SARS-CoV不同。其次，也即最重要的是ME-SARS CoV和SARS-CoV直接祖先和贮存宿主可能有天壤之别。SARS流行已10年多，但至今仍未发现SARS-CoV之直接祖先和贮存宿主。因此，本书多章在学术上证明其为非自然起源。顺便指出，Ge等在2013年11月《自然》（Nature）发表论文的摘要内结论："中华菊头蝠是SARS-CoV的贮存宿主（Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV）"是错误的，不符合实际和国际文献公认之观点；并且，我们列举多方面证据，表明"中华菊头蝠应为SARS样冠状病毒（SARS-like coronavirus，SL-CoV）的贮存宿主"。同时，我们强调：①此论文之研究内容无法获得上述错误的结论；②关于"中华菊头蝠是SARS-CoV的贮存宿主"之错误结论，唯

能妨碍对 SARS 和 SARS-CoV 真实起源之研究。我们已致信该杂志和包括美国一权威在内的两位通讯作者；很遗憾，对于我们在流行病学上近乎常识性地质疑避而不答；因此，有关评论的英文文章仅能刊印在“*Negative*(医学争鸣)”(详见本书附件五)。

更有趣的是，笔者在撰书过程中，偶然发现早于 SARS 流行不久的 2003 年 5 月，一位国际微生物学、冠状病毒领域权威在顶级杂志上即认为：“因此，SARS 冠状病毒既不是任何已知冠状病毒的突变体也不是重组体。它是一种既往未知的冠状病毒，可能来自非人类宿主，并以某种方式获得了感染人类的能力。”可见，此专家之论断实际已提示：SARS-CoV 起源异乎寻常、非同凡响，不知(其)如何进化“适应(于)人”；换言之，不能除外其为非自然进化所致；若更深层次推想，即为自然界不存在其直接祖先和贮存宿主。遗憾的是，我们未及时细细品味此专家的这一重要论述；否则，众多学者不会在探索其祖先、直接祖先和贮存宿主等起源研究方面浪费许多精力，走不少弯路(详见本书附件四)。

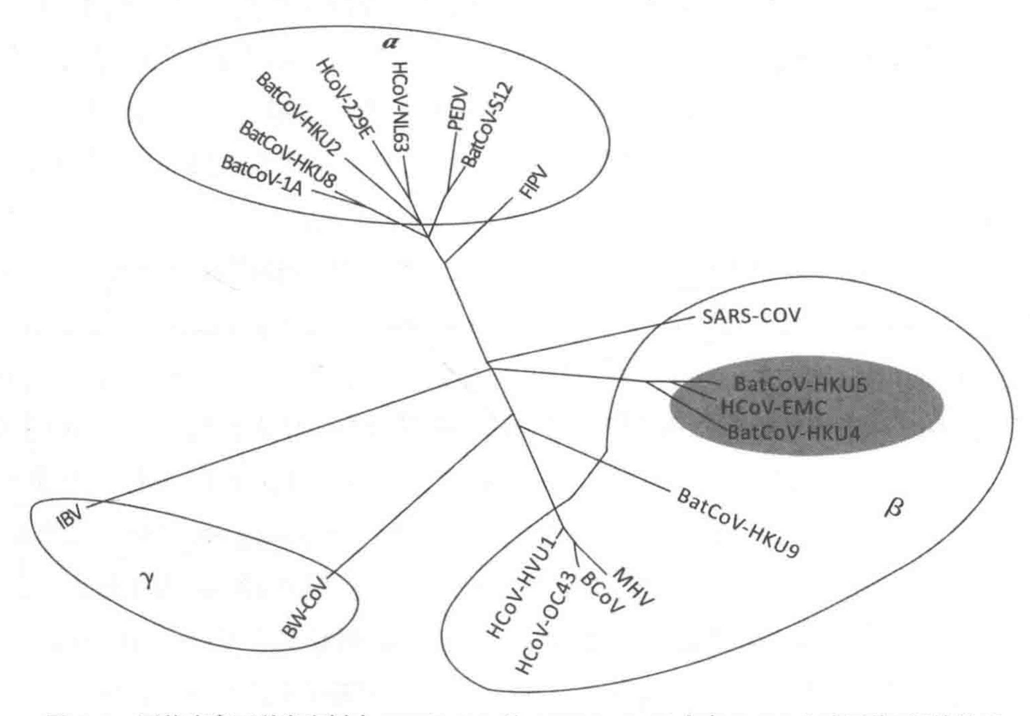


图 4-5 冠状病毒亚科发育树内 SARS-CoV 和 MERS-CoV(中东 SARS 之病原体)间的关系

αβγ 分别代表冠状病毒亚科之 α、β、γ 冠状病毒属；HCoV-EMC 为患者标本中经细胞培养之 MERS-CoV 分离株。

(引自：Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. N Engl J Med, 2012, 367(19): 1814-1820.)

事实上，不仅迄今未见 SARS-CoV 之贮存宿主，而且我们发现其在 SARS 整个流行期间发生了“逆向进化”，其传染性和致病力逐渐减弱，直至在自然界和人群中消失(详见本书第一章和本章有关内容)！而中东 SARS 则不同，美国 CDC 的学者于其流行早期即 2012 年 10 月，在指示病例发病地区采集的蝙蝠(T. perforatus bat)内分离出一株 MERS-CoV，后者的

最保守区序列和该病例毒株（β-CoV 2c EMC/2012，图 4-5）100%同源，作者认为该蝠为传染源。由于蝠为许多冠状病毒疾病之传染源甚至贮存宿主，也为 SARS-CoV 祖先的宿主；故蝠为 MERS-CoV 的传染源甚至贮存宿主之可能性很大。可见，和 SARS 截然不同，中东 SARS 在开始流行后半年，美国 CDC 即发现蝠作为其传染源之可能性很大。

所以，由上 4 点，若将 MERS 和 MERS-CoV 分别以“中东 SARS（ME-SARS）”和“中东 SARS-CoV（ME-SARS CoV）”命名则更好：能将 SARS 和中东 SARS 进行更好地更细致地更全面地比较研究，更能尽快理解并进一步探索如下诸点：两者之病原体虽同为一属、其祖先很可能均来自蝠，虽临床上很相似、均能引起呼吸道综合征，但为何在流行病学和起源与进化具有如此大差别，为何中东 SARS 较 SARS 晚出现 10 年；也即最重要者，是使不同领域专家甚至公众掌握鉴别如下两者关键策略之所在：自然进化之新发传染病和新品种病毒基因武器所致疾病。

在上述简要介绍的最近十多年发生、在学术上联系极强、区别又十分显著的两种新发传染病之发生和流行过程基础上，结合本章“第二节 当代基因武器的发展过程”、“第三节 当代基因武器的研制手段”之内容，同时考虑目前全球地理气候变化和国际战略态势，我们应用我国传染病流行病学理论，以人类健康和全球安全为宗旨，大胆地对基因武器提出新的分类方法。

基因武器总体上可分两大类。

第一类：传统基因武器（traditional genetic weapon），指自然界病原体及其产物、其他生物和人类自然存在的基因，经生物技术等实验手段改造后并武器化。第二章已用较多篇幅叙述，故本章将不再论及。时间上，其主要是在 20 世纪和 21 世纪初使用的；但今后还将使用，尤其在大规模战争中。

第二类：当代基因武器，一言以蔽之：研制自然界生物和人类不存在的新品种基因并武器化；其定义在本节之首已给出。在学术上可证明：进入 21 世纪，此类武器已开始使用；已有很多材料显示，正在大量研制和生产。可以预测，若专家和国际组织对其没有充分的认识，甚至尚为其迷惑或有意无意地掩盖，公众又不知情，当代基因武器研制、施放及其幕后策划之生物恐怖主义者将有恃无恐，逐渐地愈加频繁地不断使用此类武器。因此，值得各国秉持正义的学者和人士提高警惕！

三、当代基因武器的分类和可能的施放方式与攻击后果

由于当代基因武器使用的时间不长，加上其研制阶段，估计仅二、三十年；又因为此类武器保密性极强、敏感性极高，即使知情者或质疑者均讳莫如深，故笔者知之甚少，仅能作为一位流行病学学者，应用已掌握的我国传染病流行病学理论之精髓，深入思考参与我国防控新

发传染病过程之积累,历史性、比较性地研究国际文献内有关此类新发传染病和既往同类或相似传染病之结果,发现某(些)新发传染病之非同寻常流行史及其许多不符合自然流行与进化规律之处,从而得出其为"非自然起源"之结论。同时,对近几十年尤其近十年生物武器和基因武器发展史之观察与比较,广泛阅读近期西方有关基因武器的文献和解密资料,笔者初步认为,按战剂性质、施放方式和效果与结局,目前可将当代基因武器分为3类:人制人新种病毒过客型基因武器(简称:人制人新种病毒基因武器),人制人新种生态型基因武器(生态型基因武器)和致病基因基因武器。

(一)人制人新种病毒过客型基因武器(人制人新种病毒基因武器)

1. 定义和特性 人制人新种病毒过客型基因武器[genetic weapon with artificial new species of human virus(passenger type)或genetic weapon with man-made new species of human virus(passenger type)],指经基因改造结合一系列动物群体性适应试验等方式,将某些低级野生动物病毒制成对人类致病、致命之人工新品种病毒并武器化。可简称,人制人新种病毒基因武器。

在国际上,我们首次在学术上阐明了SARS-CoV的起源,并判明自然界根本不存在其直接祖先和贮存宿主之后,由此提出了"人制人新种病毒过客型基因武器"这一概念。为何SARS-CoV是非自然起源,本书多章从不同的角度对此进行了阐述。本章提请读者注意,SARS和其他新发传染病甚至其他所有传染病具有以下三个非常反常的现象:

(1)我国广东和大陆流行各阶段之病例分布、传播方式和临床表现差异显著且反常:2002年11月16日我国佛山发现第1例SARS患者,至2003年1月31日两个半月内发病194例,分散在6个市区,传播慢,症状较轻,病死率低;而其后2、3月共发病1037例,集中在广州,且主要为医院-家庭爆发模式,病情危重,出现较多超级传播者;并于2月下旬分别传至香港和北京,再扩散至东南亚和美欧诸国。值得一提的是,2003年4月中旬至5月初,大陆每天SARS发病数达100~200例及以上,但至2003年6月3日后即再无发病报告;当年7月后,除2003年12月至2004年1月广州爆发(广州爆发)4例轻型病例和实验室感染病例外,全球近10年多未见发病。此种流行规律和模式及其临床特征变化,在人类传染病史上尚无先例。

(2)广州爆发SARS病例的流行病学与临床特点和随后实验室感染与2002—2003年流行的均截然不同:SARS的流行在各国分别于2003年6~7月戛然而止,但2003年年底却在广州爆发。4名病例相互间无接触史,呈散发状态,但其中3例在病前一个潜伏期内均有同在两个相邻餐厅的果子狸暴露史。令人惊异的是,该4例无续发、病情轻,均痊愈出院,住院时间仅为22天 左右,出院后预后好,且257名接触者(其中密切接触者113人)无一发病。

然而，广州爆发后 2 个月，2004 年 3 月 25 日至 4 月末，我国突然发生一起实验室感染，北京和安徽共确诊 9 例患者，死亡 1 例。且有续发和超级传播者，可见其传播力强，流行强度大。临床病情危重，病死率高(1/9)。这起实验室感染的流行特征与临床表现和之前 3 个月的广州爆发明显有别，却和一年前之 2002—2003 年流行中病例的表现非常一致。从 SARS 流行过程视之，这起实验室感染应为独立事件，其指示病例为暴露于 2003 年上半年流行期采集的含 SARS-CoV 之实验材料受染。更有甚者，其分离的病毒和贮存于实验室内 2003 年上半年流行毒株的特性相同。

可见，2003 年年底至 2004 年初人和狸群内 SARS-CoV 基因已"逆向进化"(详见本书有关章节)，所致病例症状轻，传播力弱，较 2002—2003 年有明显区别；而实验室感染病例的流行病学与临床特点及其病毒特性却仍与 2002—2003 年相同，其唯一的原因是：致实验室爆发的 SARS-CoV 贮存于实验室，未经人群传播中"逆向进化"。这又从另一方面证实，SARS-CoV 为非自然产生而突然进入人群后又不能适应新宿主，出现"逆向进化"。故此实验室感染偶发事件，不仅为解释全球 SARS 流行的整个过程奠定基础，而且也为 SARS-CoV"逆向进化"提供了有力的佐证。

(3)特定传染源果子狸的分布非常奇特：自 2003 年在果子狸等动物中分离到 SARS-CoV 之后，很多学者相信果子狸是 SARS 的传染源；但进一步研究发现，果子狸的分布与其他人兽共患病的动物传染源明显不同。我国内地携带 SARS-CoV 的果子狸分布的许多研究，发现非常奇特的状态：即受染果子狸均集中于深圳和广州的 2 个活动物市场或野生动物市场，且主要在广州新源动物市场。同时有学者于 2004 年 1 月在新源市场内，从 4 个商贸区 18 个摊位随机抽取 91 只果子狸、15 只貉以及 24 份外环境标本，并于同年 1 ~ 9 月对大陆和广东牲畜贸易大于 80% 的其他省份且供应新源动物市场的农场收集标本，计 25 个农场 1107 只果子狸。结果令人惊异，新源市场 91 只果子狸、15 只貉 SARS-CoV 均阳性；24 份外环境标本中 22 份阳性；而其他省份 1107 个标本均阴性，地区分布显示了如此阳、阴分明的特征！

上述研究，为 SARS-CoV 之非自然起源提供了科学依据。而 SARS-CoV 非自然起源，实际上意味着其为"人制人新种病毒基因武器"的极大可能性。

换言之，从 SARS-CoV 之起源和 SARS 的发生、播散和流行过程及其影响因素，即可研究此类人制人新种病毒过客型基因武器的施放方式和结局。

2. 施放方式 从以下几点可推测，SARS 为何首先在广东佛山发生？又是如何进入国境的？并且其是以什么方式施放的？

(1)特定传染源-受染果子狸栖聚地：已如上述，SARS 整个流行期间，其均集中于深圳和广州的 2 个市场，尤其广州新源市场；并不向外传播，即其他市场或养殖场均无使果子狸

受染 SARS-CoV 并在体内繁殖生存之条件。因此,虽然有许多未知因素待解,但仍可结论:①作为传染源果子狸栖聚地的 2 个市场,具有使其受染 SARS-CoV 并能在体内繁殖生存之非常特殊条件;②此类首批受染果子狸之 SARS-CoV 或首批受染 SARS-CoV 之果子狸由外输入,因为除上所述多个奇特之处外,多篇文献报告:在 SARS 流行前十数年,已养成吃果子狸等习惯,但为何至 2002 年 11 月才发病,且在广州之周边均有此习惯,但为何早期和中期之初仅在其西面和南面发病;③国内外学者认为 SARS 为人兽共患病或自然疫源性疾病,而此类疾病多见于其贮存宿主出没之草原、农村、山地、林区等,尤其是刚开始流行的年代,而 SARS 却相反,可支持上述判断:最早受染之果子狸或首批果子狸受染之 SARS-CoV 存在其特殊渠道输入;④果子狸栖聚的 2 个市场所在地(深圳、广州)靠海;最初先后爆发流行之 2 个城市为佛山、深圳,更靠海(图 4-6);便于携带 SARS-CoV 之动物由外入侵;⑤更值得关注如下事实:Xu RH 等流行病学研究时,发现广西指示病例是野生动物贸易商的司机,而其可将广西、他省甚至邻国越南的野生动物供应广东市场。可见,广东动物市场来往的渠道十分杂乱,甚至可以直通国外,毫无疑问,其为“SARS-CoV 非自然地引入”提供了可乘之机。

(2)流行最早期和首发地:为广东省 5 个城市:佛山、深圳、江门、中山和广州,均靠海;从地形生态视之,其均为珠江三角洲之冲积平原,不是自然疫源性疾病或人兽共患病好发地。而图 4-6 内靠北离海远之河源和肇庆 2 市,分别在深圳和广州发病后输入并致爆发。可见,首发地地区分布和受染果子狸栖聚地一致。

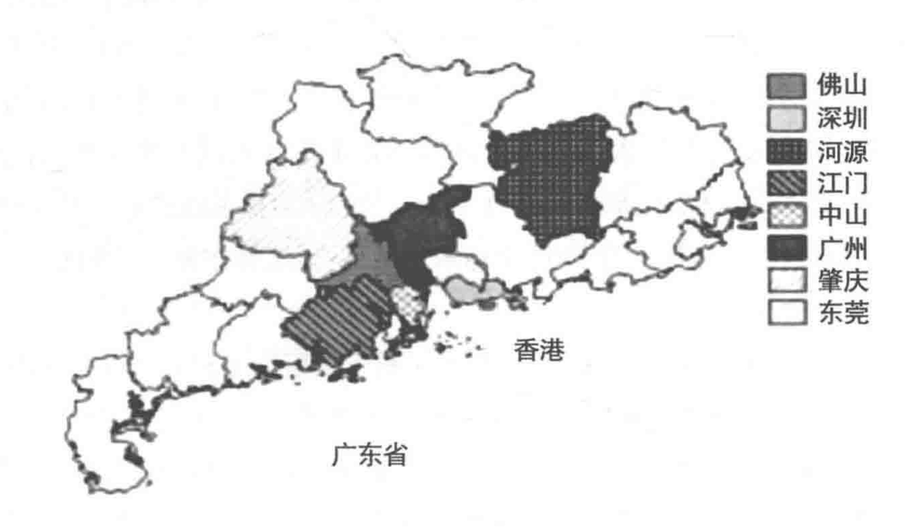


图 4-6 广东省 SARS 流行早期的地区分布

(引自:Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular Evolution of the SARS Coronavirus During the Course of the SARS Epidemic in China, Science, 303:1666-1669. 稍做修改)

由此可以推测,SARS-CoV 由境外输入的可能性很大。在我国流行病学史上曾有记载,流行性肾病综合征出血热经船携带其贮存宿主-鼠类长距离之异地传播;国际上也有类似例子。

至于施放之具体方式可多种多样,但笔者认为:肯定不是"炭疽邮件"之攻击模式;很可能是经实验室适应试验的"某种特殊动物",从学术上可判定的是:后者若不是仅能生存于我国境内的果子狸本身、即为能将 SARS-CoV 传至此类果子狸的近缘哺乳类动物。

3. 攻击之结局 其流行结果应众所周知,但对 SARS-CoV 及其宿主之去处可能不完全清楚。

(1)*SARS 流行对我国和人类危害空前严重*:其自 2002 年 11 月在广东佛山发生后,疫情先局限于广州及其南面和西面,此后蔓延至其北面和东面;次年 2 月在国内开始向北至京津等华北地区,南向香港,并经香港传至东南亚和北美。流行共涉及 29 个国家和地区,计发病 8098 人;亡 774 例(9.6%)。其中,我国病例数最多,达 7428 名,占 92%;医务人员发病 1456 名,占我国病例数之 20%,占世界医务人员数之 85%;我国死亡 685 人,占总数 89%,病死率为 9%。因此,除对经济发展和社会秩序等造成巨大冲击外,仅就发病数一项而言,在世界各国中我国危害最为惨重(表 4-1)。此外,华裔较多之国家或指示病例输入后该市或社区华裔较多之国家,如新加坡、加拿大发病也多,分别为 238 例、251 例,病死率分别为 14%、17%。其原因可能有二:一为这些国家华裔居民和我国交往频繁,暴露机会多;二为华裔之易感性可能高。

因此,SARS 流行不仅是我国的灾难,也是全人类的灾难。

表 4-1 主要流行国家或地区 SARS 发病和死亡数(2002.11.1—2003.7.31)

国家或地区名	总病例数	医务人员		死亡	
		病例数	%	人数	%
中国	7428	1456	20	685	9
大陆	5327	1002	19	349	7
香港	1755	386	22	299	17
台湾	346	68	20	37	11
新加坡	238	97	41	33	14
加拿大	251	109	43	43	17

注:表内数据摘自 WHO,仅增"中国"一栏

(2)*SARS-CoV 的起源*:2001 年发生在美国的"9·11 事件"是震惊世界的"恐怖主义"袭击事件,是恐怖分子对美国和全球的巨大挑战;美国政府和人民遭受了其历史上自日本军国主义"袭击珍珠港"后最沉痛的打击,造成近万人伤亡,数千亿美元的经济损失。由此,使全体美国人民和世界各国政府与人民对恐怖主义深恶痛疾,从而开启了国际上坚决打击"恐怖主义"之新时期。"9·11 事件" 发生后,美国政府和人民立刻动员起来,在短短几年内即

查明了参与此袭击事件的成员及其策划过程和分布于全球的分支与网络，最终于事件发生后9年多、即2011年5月1日将其元凶本-拉登绳之以法。

SARS流行后，国内外学者和有关机构对其病原学、分子生物学、系统发生学、临床和流行病学规律，进行多年细致而广泛的研究，取得不少成绩；但是，对SARS-CoV的直接祖先和贮存宿主及其起源始终未有突破，甚至有无从下手和束手无策之感。

对此，很值得国际学术界，尤其是我国学者和有关政府职能部门深思！至少在如下几方面：

①对"恐怖主义"袭击方式多样性应有足够认识：从生物武器发展史，自日本侵略者在我国研制和释放细菌武器开始，继1995年东京地铁奥姆真理教施放沙林毒气，至美国2001年"9·11事件"和"炭疽邮件"恐怖袭击，足已展现恐怖袭击手段多种多样：既有地铁毒气和飞机撞击高楼之猖狂行为，又有孢子精制粉末雾化室内空气和霍乱菌污染水源之隐蔽举动；而且随着科技的发展，其将愈来愈变化莫测、防不胜防。

在此，为证实笔者的观点，引用2013年正式公开发表的论文中描述："对高致病性H5N1作为生物武器之可行性，有关专家进行了讨论。……。Ken Allibek博士(原论文作者注：曾任S国的生物战计划和生物备战室主任，后叛逃至外国)指出，'不能过分强调一种武器化禽流感病毒威胁。在恐怖分子手中，这将是最可怕的武器。……但实验室产生的病毒，将无比致命。'" 从引文中这位Ken Allibek博士的直白，不难理解其表达了如下多重极其关键之含义：第一，禽流感病毒可以武器化，且不难；第二，武器化禽流感病毒一旦落入基地组织等恐怖分子手中，最可怕，但不是最致命；第三，最最可怕、最最致命的是，"实验室产生的病毒"！在此，笔者将Ken Allibek博士的"实验室产生的病毒"这一概念做一必要的具体的补充：该博士的原意应为"实验室产生的(新品种或非自然进化品种)病毒"；因为其最先提及的"武器化禽流感病毒" 实际也为"实验室产生"或"实验室"研制，但其非"人工研制之新品种"、即不是"非自然进化品种"，而是基因改造并武器化的自然进化的禽流感病毒，因而后者最可怕，但不是最致命。可能由于仅为"讨论"，故Ken Allibek博士不可能斟字酌句。再额外提醒一点，若熟悉S国(注：原论文作者将其国名全称列出，本书摘引时，简称S国)传染病流行病学发展史的学者，均了解S国学术界对"自然生态"和"自然疫源性" 及其相关理论非常熟悉；故Ken Allibek博士才可能在国际众多权威研究者中发表上述言论。

然而，通过上述Ken Allibek博士虽简要但坦率的描述，且又经对生物技术和(或)生物武器非常熟悉的专家加以引用并公开发表，我们对生物武器、基因武器以惊人速度的发展和"恐怖主义"袭击方式的多样性，应无任何怀疑之余地。

②应有超前的创新思维：由于上述已提及，当代基因武器以令善良人们意想不到之速度发展，其应用的方式和施放手段又超乎常规千倍；面对此局面，我们应对的思维和方式均应

超前、均应创新！否则，不足以揭示形形色色的恐怖主义者之真面目！

从整部科学史可见，任何自然和社会发展中解不开之谜，均有其答案，但唯为具创新思维的勤奋执著之科学家所揭示：马克思创建科学共产主义理论解决人类社会之未来发展；居里夫妇发现放射性元素，建立放射性理论，为人类开创了核时代；尤其值得我们基础、临床和预防医学界学习和引以自豪的是，内科医生巴里·马歇尔（Barry J. Marshall）在胃组织内分离培养出幽门螺杆菌，却为人嘲笑；对此，马歇尔并不畏惧，而以自身做实验证明其存在且和胃部疾病相关，正是集创新、执著和献身之精神于一人！最终为世人推崇，获诺贝尔奖。

③应具国人之自信：习近平主席提出三个自信，非常具针对性。由于近代和现代历史状况，西方诸国在科技和学术水平高于甚至有些方面远高于我国，但非所有领域均如此，真理亦非均掌握在其手中。我中华民族不亚于世界上任何其他民族，独具四大发明之遗传基因！尤其在解放后和改革开放以来，我国人民和学者之创造性前所未有，出现了许多令世人瞩目的奇迹！然而，总有些人迷信洋人，对此不甚了了或视而不见，或对我国之创造和发现持某种怀疑态度，定要洋人点头才能加以考虑，或不深入调查和探求即加以否定。更有甚者，某些年轻人对我国根据理论-实践循环往复几十年所建立的、贴近实际的新理论不熟悉、不深究甚至不屑一顾，而对西方的，尤其是名家之论文和观点不探讨其可靠性、科学性，不审视其是否适合国情，一概吸纳甚至顶礼膜拜，不敢越雷池半步！

凡此种种，均是在科学上不自信之表现。但是，科学创新是建立在自信基础之上，无自信何来创新！

④应具有为国为民之责任感：SARS 流行刚结束，2003 年 7 月胡锦涛主席，代表广大防控专家意见并结合我国和全球传染病流行史，在大会上明确指出："人类传染病史告诉我们，任何重大的传染病，都不会在一次发作后就销声匿迹"。但 SARS 流行未遵循此规律。为什么？流行至今已十多年，却不知其从何而来，起源之处！更不知其是否为人为所致，是哪些生物恐怖主义者策划！作为受害最为深重国家的防治专家和学者及有关机构，如何向我国领导人、向全国人民、向各国患者和死难者，尤其是如何向包括判定 SARS 爆发的首位 WHO 官员、受感染牺牲在岗位上的意大利专家 Carlo Urbani 博士等英勇献身的医务人员做交代？！

对此，笔者内心深深自责，作为一名参与防控 SARS 的流行病学工作者，有愧于祖国和人民，有愧于顶天立地有五千年文明史的中华民族！我十分期望，我国学术界和业务部门能不辜负政府和人民的嘱托，增强责任感，团结一致、树立信心、突破传统、勇于创新、排除障碍，最终揭示 SARS 和 SARS-CoV 起源之真实面目，并能使之为国内外所公认！

（二）人制人新种病毒生态型基因武器（生态型基因武器）

1. 定义和特性 人制人新种病毒生态型基因武器[genetic weapon with artificial new spe-

cies of human virus(ecology type)或 genetic weapon with man-made new species of human virus (ecology type)],指研制成对靶人群,作为载体的、已经一系列动物群体性适应试验后适应其生态环境和人群、且能作为人制新品种病原体(战剂)之贮存宿主的某种动物并武器化。可简称为生态型基因武器。

此定义内,有两个术语需加以说明。第一,"人制新品种病原体",即为人制人新种病毒生态型基因战剂(ecological genetic agent of artificial new species of human virus),指将有限空气传播新种病毒株在雪貂之类群体和战剂贮存宿主群体之间,进行传代-适应-世代循环试验,直至其完全适应于战剂贮存宿主,即能在后者群体内生长、繁殖、传播、流行,世代往复;然后将其武器化。可简称为生态型基因武器战剂。第二,"适应",有三重含义:①人制新品种病原体,"适应"于某种动物,即能在此种动物体内生长繁殖、长期生存并不断排出体外,并在其种群内维持流行、世代相传,故此种动物体能为病原体之贮存宿主;②同时此类病原体又在一定程度上"适应"于靶人群,能导致一定规模的爆发和流行;③作为此种人制新品种病原体贮存宿主之动物,"适应"于靶国/地区之生态环境和人群,能在其中长期生存、世代相传。换言之,作为生态型基因武器,必须具备此三重"适应"性。

由此可见:①生态型基因武器之复杂性和研制之难度;②其千般复杂和万种困难,关键在于三重"适应",也即在于各种进化之"适应"性!

在自然条件下,核酸变异是随机的。另一方面,病毒只有适应宿主的变异才能生存和繁殖,因此选择是有方向的。随机的变异和有方向的选择决定了病毒的进化规律。有学者研究了2009年大流行的新型甲型H1N1病毒的自然进化趋势,发现2005年在美国艾奥瓦州一个养猪场工人体内分离的猪H1N1病毒株,其PA、PB1和PB2编码基因与2009年的甲型H1N1流感病毒具有非常高的同源性。作者认为猪流感病毒H1N1至少在2005年就从猪传给了人类,并且推测该病毒在2005年没有造成大范围流行,可能因为当时病毒还不具备或者还没有进化到具有高度传染性的遗传状态。之后也有动物体内试验证实,2009年新型甲型H1N1流行株在小鼠和雪貂体内的繁殖能力显著高于一般的人类H1N1病毒,而且对小鼠、雪貂和非人类灵长类动物造成的肺损害程度也超过一般的人类H1N1病毒,但在猪体内造成的损害却很轻微。提示该病毒很有可能在猪体内经历了漫长的进化过程中,适应了宿主猪;而继后在猪和人类的交往中,此种猪H1N1病毒单独、更可能是和人类的某些H1N1病毒相互作用下,获得了部分感染人类的能力;此后,在和人群之不断频繁接触中,又经一段时间的自然进化,进一步适应于人直至基本,甚至完全适应于人;最终导致自然进化的新型甲型H1N1病毒(猪源流感病毒,S-OIV)2009年大流行。无疑,新型甲型H1N1病毒(S-OIV)2009年大流行,是甲型H1N1病毒祖先株在自然界(野禽、兽类)和人类社会(家禽、家畜,人类)相互来往与依存中渐进和/或跳跃式、长时间、分阶段进化之结果。

具体分析，经上述许多现场试验和实验室研究，证实了 2009 年大流行的新型甲型 H1N1 病毒之漫长自然进化过程；笔者主要按此思路，为探索生态型基因武器战剂病原体研制过程，初步画出下述分阶段进化模式(图 4–7)：①在野禽和/或家禽内“甲型 H1N1 病毒祖先株 1”，感染猪群，并在其体内产生“甲型 H1N1 病毒祖先株 2”或前体，继后又在此两种动物间循环和相互适应相当一段时间。②经进一步进化，猪体内完全成熟和稳定的“甲型 H1N1 病毒祖先株 3”脱颖而出。③猪“甲型 H1N1 病毒祖先株 3”主要在北美流行，转辗于猪、家禽和人群之间；在此较长期间，其和全球的甲型 H3N2 等季节性流感病毒、甲型禽流感病毒等在此 3 类群体宿主间相互作用和适应性进化，同时产生了“三重配体猪型 H1N1 病毒(北美)”优势株。④在此进化和适应循环中，于 2005 年(美国艾奥瓦州)猪群内出现“甲型 H1N1 病毒直接祖先株”，具感染人类之能力，但尚未适应于人群间经空气飞沫传播。⑤又经 4 年适应进化，终于在 2009 年春“新型甲型 H1N1 病毒”形成，导致全球流行；其 8 种基因主要来自 4 种谱系：北美经典猪型，北美禽类，季节性 H3N2 和欧亚猪型。

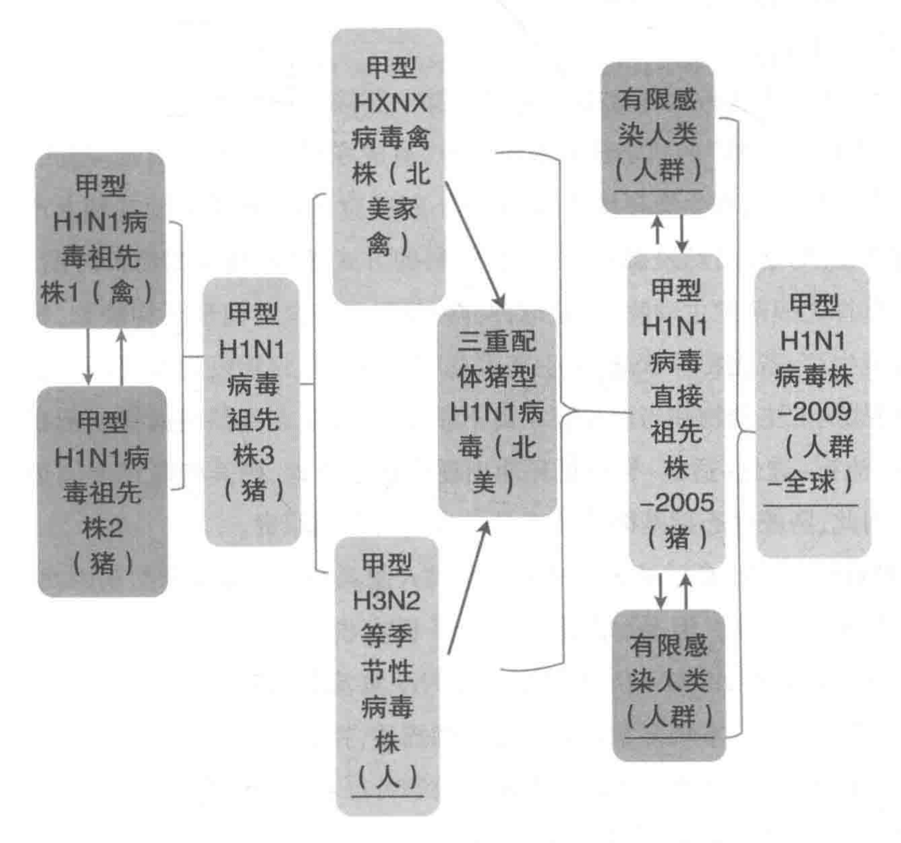


图 4–7　2009 年甲型 H1N1 病毒株漫长的自然进化过程

据此，学者们按上述甲型 H1N1 病毒株的自然进化过程，则不难推测：若这一进化过程被人为干扰和操纵(技术参见第三节)，将其纳入特定的进化和选择轨道，可最终形成具有特

定攻击性的病毒，制造生态型基因武器。换言之，生态型基因武器之研制，必须遵循人为改造的“自然进化”步骤：①首先，也为研制武器之核心，是选择适合靶人群生态环境、能长期生存繁殖且和人类密切或较多接触、且能人工改造为某特定病毒（病原体）贮存宿主的某种动物（暂称“生态型战剂贮存宿主动物”，简称“战剂贮主动物”）。②将能适应或易经人工改造适应“战剂贮主动物”、具有毒力高和传播力强、传播媒介多、进化期短、便于基因改造的特定病毒（病原体），进行基因改造和系列传代适应动物试验，使其产生具在如雪貂群体（相当于人群）内进行有限空气飞沫传播和流行之人制人新种病毒株，暂称为“有限流行的人制人新种病毒株”，可简称“有限人新种病毒株”。③将有限人新种病毒株在雪貂群体和战剂贮主动物群体之间，进行传代-适应-世代循环试验，直至其完全适应于战剂贮主动物，即能在后者群体内生长、繁殖、传播、流行，世代往复；然后将其武器化，生产成“人制人新种病毒生态型基因武器战剂”，可简称“生态型基因武器战剂”。④将携带生态型基因武器战剂的战剂贮主动物，放入模拟的靶人群生态环境内生存繁殖传代，使其能完全适应该生态环境，不仅保持原有种群的数量和规模或稍有扩大，而且能使携带之生态型基因武器战剂在此生态环境内生存、传播和流行。

由此可见，人制人新种病毒生态型基因武器十分接近自然状态，故难以侦破和防控，它往往会以一种非常“自然”的状态进入被攻击方，造成在识别上更加困难；与此同时，由于生态型基因战剂是以靶人群生态环境为基础，在不断适应、筛选和进化的基础上产生，因此，可在被攻击方建立永久性自然疫源地，以最为隐秘的方式植根，造成相当长时期、不断地攻击与伤害。若选择之战剂贮主动物，在全球种群数量很少甚至其他地区均缺如，则其仅能在靶人群生态环境生存；若无特殊状况，此生态型基因武器所致自然疫源地将不会扩展。但长期流行之后，当战剂贮主动物和当地家畜家禽不断接触、经生态型基因武器战剂在这些动物群体之间感染-流行-进化-适应-轮回循环而出现衍生疫源地，则其将蔓延至周边地区或国家甚至全球。因此，防控生态型基因武器亦是全人类之共同职责。

2. 目前状况 迄今，全球尚未正式发现此类人制人新种病毒生态型基因武器之应用；在学术亦尚未证实其施放。但是，笔者将以以下事实说明，在流行病学上，不能排除我国2013 年2 月发生的由 h-H7N9 AIV 引起的人 H7N9 禽流感流行为非自然起源（人制人新种病毒生态型基因武器）。本书多章已做了相关的描述，在此做必要的强调和综述。

第一章已论述过，h-H7N9 AI 的主要流行病学特征和以往的各种人禽流感，甚至人类急性传染病相关规律截然相反。笔者在大学期间，老师讲述朝鲜战争期间判定敌人发动细菌战之原则为：其所致流行不符合其自然史！在此应该强调，此原则至今仍适用，是鉴别任何类型基因武器之“金标准”！临床在诊断疾病和流行病学上追索传染源和传播途径，常用“排除法”（可能在刑侦学上也如此）。因此，对不能证实其是自然进化所致之病原体和/或

其所致疾病的流行不符合本身之自然史，则不能排除其为基因武器。故对于“和以往的各种人禽流感，甚至人类急性传染病相关规律截然相反”的 h-H7N9 AI 流行，不能等闲视之，尽管这些反常的流行规律，是由描述性研究获得。事实上，描述性研究是各种现代流行病学方法之基础。

h-H7N9 AI 流行和 h-H7N9 AIV 特性的重要反常之点，归结如下。

（1）流行强度和病死率反常：自上海 2013 年 2 月 19 日发生第一例开始，至 2014 年 6 月 27 日止，WHO 获报 450 确诊病例，亡 165 人，病死率 36.7 %（http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/influenza_h7n9/riskassessment_h7n9_27june14.pdf?ua=1）。

h-H7N9 AI 此种流行强度和过程，和 10 多年前世界首起人类高致病性禽流感，即人 H5N1 禽流感（h-H5N1 AI）流行相比，相差悬殊或呈明显反常。首例人 H5N1 禽流感，于 1997 年 5 月 9 日在香港发病；但随后仍在该市近 7 个月内，仅共发生 18 例（表 4-2）。继之，5 年后才第 2 次爆发，然仍主要在香港，我国大陆仅 1 例。此后才逐渐向东南亚扩散，但直至 2006 年即首次流行后 10 年，全球仅发病 298 例，为我国 h-H7N9 AI 流行一年多总数之 66.2%。

表 4-2　全球 h-H5N1 AI 流行的年代和国家分布（1997—2012）*

国家	1997	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	合计
中国	18/1#	21/2#		3/1	22/1	27/1	30/1	38/1	40/1		43/1	242/10
泰国			5/1	19/1	25/1							49 /3
越南			5/1	65/1		101/1	106/1	112/1	118/1		123/1	630/7
柬埔寨				4/1	6/1	7/1	8/1	9/1	10/1	18/1	21/1	83 /8
老挝						2/1						2 /1
印尼				7/1	73/1	116/1	138/1	162/1	171/1	182/1	192/1	1041/8
土耳其					2/1							2/1
伊拉克					3/1							3/1
尼国&						1/1						1/1
埃及					18/1	40/1	51/1	90/1	114/1	156/1	169/1	638/7
巴国&						1/1	3/1					4/2
缅甸						1/1						1/1
吉布提					1/1							1/1
阿国&					1/1							1/1
孟加拉							1/1			3/1	5/1	9/3
合计	18/1#	21/2#	10/2	98/5	151/9	296/9	337/7	411/5	453/5	359/4	553/6	2707/55

注：“*”表示数据引自 WHO，主体数字形式为 n_1/n_2：n_1 为病例数，n_2 为爆发次数；“#”1997 年仅发生于香港；2003 年主要发生于香港，为 20/1（n_1/n_2）；“&”尼国、巴国、阿国分别代表尼日利亚、巴基斯坦、阿塞拜疆

流行强度反映了病毒之传播力、环境之传播条件和人群易感性。可见后者在 h-H7N9 AI 和 h-H5N1 AI 之间有天壤之别!

h-H7N9 AI 和 h-H5N1 AI 之间病死率差异非同一般。前者迄今为 36.7 %;而后者在 2003 年至 2006 年 4 月 30 日为 56%(表 4-3),而且 2014 年 1 月 WHO 发表的数据仍维持在此高位。

按传染病流行病学原理,对 h-H7N9 AI 和 h-H5N1 AI 之间流行强度的悬殊差异,可做出如下合理解释:由于 h-H5N1 AI 之病原体 h-H5N1 AIV 是由自然进化所致,故其进化历程缓慢,即使进入人群后 13 年、流行区域已涉及 3 大洲,但其适应人类之程度仍不高。此种发生和流行过程符合人类新发自然疫源性疾病之自然史。而 h-H7N9 AIV 很可能在进入人群前已经某种适应性试验,故其在靶疫源地病死率较 h-H5N1 AI 低,但传播力强、发病率高、区域广。此种发生和流行过程不符合人类新发自然疫源性疾病之自然史。当然,若是非自然起源,h-H7N9 AIV 在研制过程中也可在基因结构上加以有目的地改造,如对宿主受体结合位点的控制,将毒力介于高致病性和低致病性禽流感病毒之间;而传播性则相反,使其加强(实际从现有的 h-H7N9 AIV 分子病毒学,似可窥见此点,恕不详述)。

由此反推,从流行强度、流行过程和病死率异常可推断:不能排除 h-H7N9 AIV 为非自然起源。

表 4-3 全球不同年份和年龄组的人感染甲型 H5N1 禽流感病死率(2003—2006.4.30)

年龄组(岁)	病死率% (死亡数/病例数)				
	2003	2004	2005	2006	计
<5	(0/0)	71(5/7)	0(0/8)	67 (4/6)	43 (9/21)
5~9	100(2/2)	88(7/8)	21 (3/14)	13 (1/8)	41 (13/32)
10~19	100 (2/2)	85 (11/13)	67 (12/18)	69 (11/16)	73 (36/49)
20~29	(0/0)	50(5/10)	55(11/20)	80 (12/15)	62 (28/45)
30~39	(0/0)	75 (3/4)	57 (13/23)	67 (4/6)	61 (20/33)
40~49	(0/0)	50 (1/2)	38 (3/8)	100 (1/1)	45 (5/11)
≥50	(0/0)	100 (1/1)	10 (1/10)	(0/0)	18 (2/11)
计	100 (4/4)	73 (33/45)	43 (43/101)	63 (33/52)	56 (113/202)

(引自:WHO. Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection. Weekly epidemiological record,2006,81(26):249-257. 稍加改动)

(2)h-H7N9 AI 与 h-H7N9 AIV 起源,传染源栖居点和地区分布与流行趋势反常:

①h-H7N9 AI 与 h-H7N9 AIV 起源反常:迄今"人感染禽流感(h-AI)"之发生,皆由野鸟-家禽-人之间的种群跨越流行自然史。仍以 h-H5N1 AI 以例。其在香港流行前一年,即 1996 年已在广东鹅群中分离到高致病性 H5N1 AIV;且首次在香港人群流行的当时,该市农

场和活禽中也出现多起 H5N1 AI 爆发；而印尼人 H5N1 禽流感之流行过程更为典型：于 2003 年家禽内首次检出 H5N1 AIV，后不断在各省家禽内爆发，而首例人 H5N1 禽流感直至 2005 年 7 月才出现。H7 型 AIV 的流行自然史亦然。

然而 h-H7N9 AI 却十分反常。国际上多篇报告表明，在 2013 年我国流行前，北美，包括韩国和蒙古的欧亚大陆的禽类内均早已发现 H7N9 AIV；令人百思不得其解的是，我国却从未见。因此，按 h-AI 自然史，在人群中的首次流行不应发生在我国，而应发生在已分离出 H7N9 AIV 的那些国家！

②传染源栖居点反常：由上所述，h-AI 发生应先在野鸟后至家禽内发生，其传染源栖居点亦应如此。如 h-H5N1 AI。

而按 2013 年 h-H7N9 AI 之传染源栖居点分布，和 h-AI 之规律反常，其传染源栖居点非常怪异：上海公布"由国家禽流感参考实验室已经确认的、分离到阳性样本的、局限在上海 1 个活禽批发市场和 2 个农贸市场。在其他的一些畜禽养殖场、养殖户，还有一些野生鸟类……中，都没有检测到 H7N9……"。虽然，2014 年 5 月有国外杂志报告，上海在崇明的东平国家森林公园从一健康树麻雀（tree sparrows）分离到 1 株 H7N9 AIV，但正如该文作者指出的其阳性率极低：野禽 2198（麻雀 1149）份标本仅此一份阳性；而树麻雀在我国分布极广、密度很高。和 2013 年报告的活禽批发和农贸市场聚集性相比较，其相形见绌；至少在流行病学上可以断定，其非 2013 年上海 h-H7N9 AI 流行之主要传染来源。然而，笔者认为，此发现对查明我国 h-H7N9 AI 之起源有重要意义。

无独有偶，h-H7N9 AIV 此种传染源栖居点分布却和 SARS、SARS-CoV 很相似：SARS-CoV 仅从广州和深圳的 2 个野生动物市场分离到，在供应其货源的本省和其他省区饲养场均未见。而后者，却是我们揭示 SARS-CoV 为非自然起源的流行病学反常分布证据之一。因此，h-H7N9 AIV 传染源栖居点反常，为非自然起源的流行病学的重要证据。

③地区分布与流行趋势反常：h-AI 之流行无论是纵向（年代）抑或横向（每年），通常由家禽内相应的 AI 爆发和流行，后波及人，即其传染源隐藏于野鸟和/或家禽内，此后由于人群接触发生流行的家禽养殖场或其产品才受染；且开始，其规模非常小：病例少，流行区域不大，持续时间短，甚至间隔几年才出现第二波；唯经多年流行后才扩展至多国范围甚至跨越洲际（表 4-2）。

而 h-H7N9 AIV 传播力远高于包括 h-H5N1 AIV 在内的其他 h-AIV：2013 年 2 ~ 3 月流行先集中于长三角，迅即向近邻蔓延；当年 11 月又出现第二波，至 2014 年 4 月，两年共有 420 例，涉及近 20 个省区。故其地区分布规律与流行趋势和 h-H5N1 AI 相比，相差悬殊，但却和 SARS 又十分类同：其流行先集中在珠三角，起初 3 个月内，仅局限于广州及其之西和南面，继之播散至其东和北面，且至山西、北京、天津等，同时经香港和北京扩散至我国大多省

区和亚欧美许多国家和地区。

因此,h-H7N9 AI 地区分布与流行趋势反常,很易和非自然起源相联系。

(3)年龄分布反常:自 2013 年 2 月 19 日开始流行的 h-H7N9 AI 年龄分布十分奇特:至 2013 年 8 月 12 日之年龄高峰在 60(51 ~ 79)岁左右(图 1-5,第一章),中位数亦为 60 岁。2014 年 6 月 27 日 WHO 将我国整个流行分 2 波(2013 年春与初夏为第 1 波,之后为第 2 波):中位数为 60 岁;第 1、2 波分别为 62 岁、57 岁。

这不仅和国内外既往人感染禽流感流行特征截然不同,而且和人类急性传染病相异。对此,是否由于十分反常,抑或其他很难表达之原因,包括非常权威杂志发表的多篇国内外论文和权威机构公布之文件,却均无法做出合理而全面的解释,仅推测和暴露机会有关。更令人困惑者,受世界卫生组织委托到我国进行现场调查和指导的 WHO 助理总干事福田敬二(Keiji Fukuda),在公众的通报会上坦率地指出:"我们还看到一些不寻常的情况,例如感染者很多都是老年人,这个原因我们现在还没有办法解释。"

相反,若结合上述区分自然进化和非自然起源病原体所致流行之判断标准,应用我国传染病流行病学理论,分析这类年龄反常分布并非难事!流行病学工作者均知:影响传染病年龄分布之主要因素为两类:免疫力和接触机会,且常以前者为主要。人类急性传染病多见于少年和青壮年。人禽流感亦如此,如 2008 年 WHO 报告:h-H5N1 AI 平均发病年龄为 21.7 岁,中位数年龄 20 岁,90% <40 岁。理由相当简单,除接触机会外,应为免疫力:任何传染病,受染后均产生特异性免疫力;大多数传染病产生的免疫力比较牢固,甚至保持终身,如甲肝、伤寒、麻疹和脊髓灰质炎等;故高年龄组发病率低,且呈线性趋势。少数传染病如各型流行性感冒、普通感冒、细菌性痢疾等感染后由于体液免疫力短暂或病原体种群众多和/或变异迅速,此种年龄趋势不很明显;且可在一生中反复受染;但又因为多次累积或交叉免疫,仍使受染者具有一定的特异性(体液和细胞)免疫力。故即使这类少数传染病在人群中,老者均较年轻者发病低,因前者具稍高的特异性免疫力。

所以,h-H7N9 AI 峰在 60 岁左右之年龄分布在史上绝无仅有;和其他人类急性传染病反常的唯一理由,为引起我国 h-H7N9AI 流行之病原体,即 h-H7N9 AIV 很可能由非自然起源和非自然引入所致:此种 h-H7N9 AIV 从未在我国野禽、家禽和人群中散发、爆发和流行过,全人群对其均易感;而老人不仅毫无特异性免疫力,各种功能退化、非特异免疫力低下,且常伴随慢性病,相对于年轻者,其易感性必然更高,病情更为严重!而相反,在野禽内检出 H7N9 AIV 之国家和地区的人群内却未出现!可以设想,在检出 H7N9 AIV 之国家和地区的人群内或多或少存在一定的特异性抗体;非常遗憾,目前尚未见此报道,可能此点未受到学者们之关注。

如上提及,最近 WHO 将 h-H7N9 AI 流行分 2 波,年龄发病高峰在 2 波之间稍有差异,但此种差异在流行病学上有重要意义:第 1 波中位数为 62 岁,第 2 波则为 57 岁。其原因可

能有两点：第一，这是年龄高峰的正常波动或者处在统计学随机误差范围内，但从样本量和时间趋势视之，此种可能性不是主要的；第二，因为第二波流行除珠三角新疫区外，仍覆盖了第一波之大部分地区，而后者在高发的老年人群或多或少由于轻型或隐性感染（虽然此概率很低，见下），获得一定免疫力。诚然，此点尚待随疫情发展做进一步观察和研究。而仅基于目前初步分析结果，无疑是对上述观点之支持。

当然，老人高发也有暴露机会的因素，如较青壮年上班族常去菜市场；但后者的作用远不如上述特异免疫力；因其他人禽流感，老人的暴露概率应和人 H7N9 禽流感相似。

有学者还推测，h-H7N9 AI 老年高发可能由于低年龄组隐性感染和/或轻症发病率高所致。然而，2013 年 7 月发表的 2 篇论文的数据可否定上述推想，而支持笔者观点。一篇报告表明：中国流感样疾病监测网［Chinese National Influenza-Like Illness Surveillance Network（CNISN）］于 3 月 4 日至 4 月 28 日，在发生 h-H7N9 AI 的 10 个省市 141 家医院监测点，对流感样疾病患者采集 20 739 份标本；其结果，鉴于原作者均用构成比表示，为比较计，本章换算为阳性检出［隐性感染和/或轻症发病］率（/万），发现 h-H7N9 AI 为：样本总人群为 2.9(6/20,739)；年龄组为：0～4 岁：3.2（/万），25～59 岁：4.9（/万），>60 岁：7.2（/万）。可见：①其阳性检出（隐性感染和/或轻症发病）率不高；②其年龄组分布和显性感染一致：>60 组最高，为 0～4 岁之 2 倍多。另一篇报告提示：我国全人群各年龄组既对 h-H7N9 AIV 无特异性抗体，也无与之相关的交叉反应抗体：作者检测 3 个年龄组（3～5 岁，18～59 岁，≥60 岁）h-H7N9 AIV（安徽株，A/Anhui/1/2013）的血凝素抑制和中和抗体，均阴性；而且在接种最近的季节性流感疫苗后也未见和 H7N9 之交叉抗体。

（4）*传播方式反常*：国内外已有很多文献报告，在此次 h-H7N9 AI 流行中，存在有限的人传人传播。至今，已有多起家庭聚集病例；而且，流行初期即有发生，甚至首发指示病例之家庭，也不能除外存在着有限的人传人传播。

有限的人传人传播方式在 h-H7N9 AI 流行过程中，竟出现的如此早！和 h-H5N1 AI 相比较，极为异常！后者 1997 年首次香港流行，2003 年又在香港和我国大陆再次爆发，后逐渐传至东南亚；而其家庭聚集性和有限的人传人或共同暴露，约在首例发病后 7 年才见。印尼 h-H5N1 AI 传播方式更为典型：2003 年家禽内首次检出 H5N1 AIV，而直至 2005 年 7 月才出现首例 h-H5N1 AI，此后伴随有限的人传人。H7 型 AIV 的流行自然史亦然。

若和 h-H7N9 AI 的传播力、地区分布与流行趋势反常结合考虑，不难发现其致病病原体 h-H7N9 AIV 起源有异常。

（5）*分子病毒学和系统发育分析初步研究中存在之反常*：从 2013 年 2 月发生至年底，研究报告发现 h-H7N9 AIV：①8 个基因虽已基本查清：HA 来自 H7 型 AIV，NA 自 N9 型，其他 6 个基因均来自 H9N2 AIV；但除 HA 基因外，其他 7 个基因具体由哪些 AIV 株重配而成，结果不一，尤其非常重要的 NA。我国有些学者认为，NA 可能来自韩国的 A/wild bird/Korea/

A14/2011 或国内;而日本学者则认为来自捷克 A/mallard/Czech Republic/13438-29K/2010(H11N9)。前者对其他 6 个基因的结论,均来自 A/brambling/Beijing/16/2012,而后者则认为:除 PB2、PA 基因相同外,其他 4 个来自我国其他省份的 H9N2 AIV;尚有其他学者获得更为不同之结果。上述差异反映,不仅 h-H7N9 AIV 或我国家禽内 H7N9 AIV(新-H7N9 AIV)基因的来源复杂,而且其进化过程曲折。②并非为传统的高致病性禽流感病毒,文献上常将其归于"低致病性"。笔者认为,称之"部分高致病性"禽流感病毒,较为适当;因为 h-H7N9 AIV 及其所致 h-H7N9 AI 的分子病毒学、系统发育学、流行病学和临床表现等和传统的"低致病性" AIV 及其所致 h-AI 呈现非常明显的差异。由此可见,其进化起源必具特殊之处,勿等闲视之。③我国 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 检出状况:如前述,流行之前,我国从未在野禽、家禽、人或其他动物中检出 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV;流行之后至 4 月底,我国仅在沪、皖等少数活禽市场禽及其(和患者)周边环境中检出;流行后 9 个月在流行病学上发现,有个别病例存在特殊暴露史:病前潜伏期内未至市场,但家内却养多只鸡,不能除外后者可能成为传染源。如此,其携带病原体之传染源群体的分布状况和 h-H5N1 AIV 等完全反常。

综上,结合前述研制基因武器之现代生物技术,不能不使学者推测:在北美,包括韩国和蒙古的欧亚大陆的野禽内发现的 H7N9 AIV(简称 wa-H7N9 AIV),在自然界仍处在野禽群体内进化阶段,未跨越上述国家人群甚至家禽之种群屏障;而致我国流行之 h-H7N9 AIV,是由这些国家或某些特定地区之 wa-H7N9 AIV,经基因改造和适应试验后产生,且使其仅适应于我国某种生态环境。现在,尚未见证据可排除此种可能性!也即不能除外 h-H7N9 AI 为非典的升级版——"生态型"基因武器所致人类新发传染病(见下)。

结束本段内容之前,必须着重强调上述已提及 S 国叛逃的生物战专家对笔者谓之"人制人新种病毒生态型基因武器"的研制及其防控所做出之"贡献"。Shoham 2013 年发表的一篇论文淋漓尽致地显示了这些"叛逃"专家之"聪明才干和不懈努力"!Ken Allibek 博士的前述发言即为一例。若仔细阅读 Shoham 的论文——Influenza type A virus: an outstandingly protean pathogen and a potent modular weapon 会发现,正文中几处直接指出多名叛逃的 S 国生物战专家及其门徒对"生物武器"及其防控所做的"研究成果"。

如,2008 年 David Pattie 博士的学位论文提供了"禽流感病毒作为生物武器威胁"的评估参数。而 Pattie 博士之导师原为 S 国顶级生物武器专家 Sergei Popov,于 1992 年叛逃出国。Pattie 博士论文题目为"禽流感病毒作为生物武器:威胁评估和公共卫生警报",提出的评估参数为"目标人群易感性;发病率和死亡率;传播;传染性;环境稳定性的因素;造成社会恐慌之能力;配方,制造工艺和部署方法;生产的有效性和可行性;区分自然和蓄意爆发之难度;经生物技术潜在操纵和滥用;生物技术为生物恐怖组织所用的潜在能力;为工程化生物武器的潜力;农业恐怖主义;疫苗的研制;抗病毒药物;抗生素(继发性细菌感染)"。在 10 多项评

估参数中,“区分自然和蓄意爆发之难度”是十分关键且难度很高的一项。此点表明该文作者:①不仅对生物武器有非常宽广的知识,能提出如此多评估参数;而且有十分深厚之研究基础。②把握了施放生物武器被揭示之核心策略,因为本书多处均提及区分自然进化病原体和生物武器所致传染病之钥匙为:是否符合该病发生和流行的自然史。③由于作为生物武器,尤其是当代基因武器的病原体(战剂),大多为生存环境和流行过程十分复杂的“自然疫源性疾病”或“人兽共患病”之病因,故该文作者对这些理论与案例应有极其深入之研究,对施放生物武器后被揭示可能性及其方法应有全面系统之探讨。而对于这些学术领域,S 国专家游刃有余。

因为,纵向和横向比较东西方的传染病流行史和疾病谱可知:S 国虽也是大国,但建国初期由于新政权刚建立,国力不强、经济落后、战乱灾难等,传染病流行频发,加之被开垦的处女地很多,因而在其很多、尤其边缘地域常见“自然疫源性疾病”;同时新政权领导下的人民不畏艰苦、勤奋拼搏、勇于创新,在和这些疾病之斗争中,不仅发展完善了传染病流行病学理论体系,而且在世界上创立了“自然疫源地”和“自然疫源性疾病”的经典理论。某种意义上可认为,我国今天的传染病流行病学理论,是引进此体系并结合我们的实际情况和实践-创新而发展起来的。但西方却不同,其对非传染病流行之斗争和研究起步较早,目前积累的理论和实践十分丰富并取得许多成果;而对某些传染病流行之理论认识与实践经验及其应对措施尚存某些不足,在西方书籍和文章中,很少论及“自然疫源地”和“自然疫源性疾病”即为一例。而东西方之间这些理论与实践差别亦可反映在当代基因武器的防控研究领域。

由此可见,这些“叛逃”专家早已掌握了“自然疫源地”和“自然疫源性疾病”理论之精髓,恰好补足了此领域某些研究者之理论缺陷。他们发挥了无人替代之作用,为研究防控“人制人新种病毒生态型基因武器”做出“贡献”。

这可能是意外的发现,但却是十分重要发现,其意义不言而喻。

3. 施放方式　由于目前尚未完全证实人制人新种病毒生态型基因武器之施放;但从以上描述,可见 h-H7N9 AI 具多种流行病学反常,在其分子病毒学与系统发育分析存在着诸多疑点。因此,我们可以按现有基因武器之发展状况,结合传染病流行病学理论,对施放方式进行假设。因为,人们认识论的主要框架为:实践-理论或假设-再实践-再理论或假设……,如此循环往复;人类科学发展史亦遵循此规律。

在此,首先引用以下 4 张多媒体图片。其为我国发生 h-H7N9 AI 流行前半年,2012 年 9 月26 日笔者在作“非典的非自然起源和基因武器”报告时,推断继非典这类“人制人新种病毒过客型基因武器”后,恐怖主义者可能发展新的基因武器时之概述。为使读者能原汁原味地理解笔者当时之构想,并和此后发生的 h-H7N9 AI 流行进行比较,故多占些篇幅和读者的时间,将其原图照录(图 4-7)。

“生态型”基因武器1

- 选择适合靶人群(国/地区)生态环境、能长期生存繁殖且和人接触密切或较多、且为某特定病原体贮存宿主的某种生物;
- 特定病原体：毒力和传播力强、传播媒介多、进化期长、便于基因改造……

115

A

“生态型”基因武器2

- 特定病原体基因改造,产生GM-P1(基改-病原体1）株;
- GM-P1对原生物或近缘合适生物的适应试验;
- 经适应试验的GM-P1,再基因改造,产生GM-P2

116

B

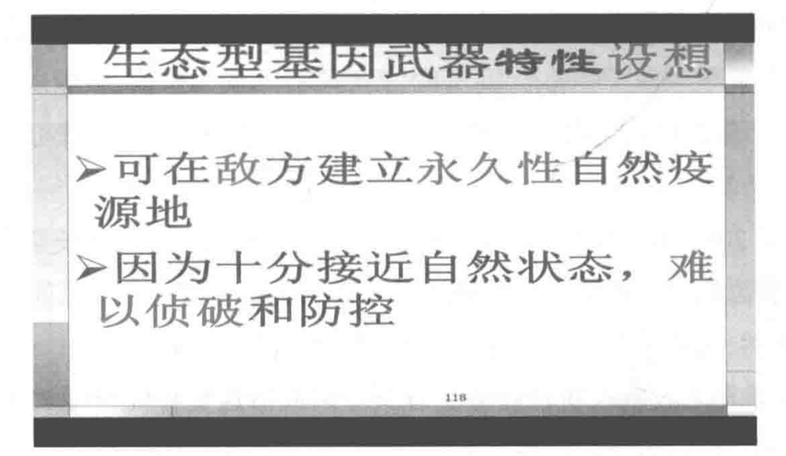
“生态型”基因武器3

- 如此往复,直至GI-P能完全适应该生物群落,且该生物可为贮存宿主(包括野外试验)
- 继续上述相同试验:在鼠或家畜内
- 若如此,则可能为攻击人类的

“生态型 基因武器”

117

C



D

图4-7 “人制人新种病毒生态型基因武器”构想之多媒体图片(2012年9月26日)

在此说明,可能由于准备时间仓促造成笔误,第3张多媒体即‘“生态型”基因武器3’中第一行内“GI-P”应为“GM-P”,请读者见谅。上述多媒体图片,发表于人H7N9禽流感在我国开始流行前半年,不仅介绍了未来人制人新种病毒生态型基因武器的战剂选择、研制路线图、应用靶区和武器性能,而且提示或简要描述了施放手段。①因为恐怖主义者选择的为靶区内可作为贮存宿主的某种生物(指动物);并且,需将此生态型基因武器战剂经和人类亲缘关系更近、接触更密切之鼠类和家畜(禽)或其他动物之适应试验。②为达此目的,恐怖主义者必然建立一个或多个生态景观完全类似于靶区之“现场”,以进行各种适应试验。③在此“现场”或可称之为‘靶区现场(较“现场”更贴近靶区)’,甚至在靶区某一秘密地进行施放试验并检验其能达到最佳效果为止。④设计和试验将这类携带人制新品种病原体(战剂)之贮存宿主动物施放于靶区各种途径。⑤此外,因为企图将靶区变成该类战剂之永久性自然疫源地,因此恐怖主义者不仅需将动物施放于靶区,而且更重要的是,在施放前还需试验各种必要的、完善的措施,保证携带战剂的动物能在该生态景观内生存繁殖而不被排斥和衰落。

从中,尤其在时间上(2012年9月26日)判断,笔者的预测和我国2013年春h-H7N9 AI的流行绝不是偶然的巧合;也不是文献之抄袭或综合。①因安上校论文的解密时间虽为2012年12月28日左右,实际上我在撰写本章的过程中搜集文献时从其他论文的索引中才发现有安文存在;②在做“非典的非自然起源和基因武器”报告时,主要阐述非典的非自然起源之各种学术证据,其时,专心于非典及其相关文献之研读和思考及其论文撰写,还未有兴趣和时间收集和阅读基因武器之文献资料;③当时也未计划写此专著,仅在我国h-H7N9 AI流行发生一段时间,发现其流行病学诸多反常,才感问题之严重性,必须将“基因武器”和发展趋势及其防控提到自己的工作日程上,才开始收集有关文献;④“非典的非自然起源和基

因武器”报告中对生态型基因武器之简要描述，主要目的出于为增强和突出课题的重要意义，按传染病流行病学原理所做的推想；其时，很难有什么实用价值，根本未想及会变成残酷之现实；但是天有不测风云，此种顺便的推理却可能成人间事实，且此种可能竟来得如此之快！真是时不我待！

反推之，笔者2012年9月的预测虽未经文献准备、严密论证，仅凭长期的学术积累和思考，却反映了生物恐怖主义者研制和使用基因武器之真实动作！这也可能反映了人类社会发展中曲折之必然，人类社会进步和落后势力较量之必然！

我们无妨将推测之人制人新种病毒生态型基因武器这些特性与施放手段和我国发生h-H7N9 AI流行过程进行比较，很易发现有诸多相似之处并由此得到启示。①我国h-H7N9 AI流行始于上海，旋即安徽、江苏、浙江等长三角地区发生，继之扩散至相邻省份；2013年下半年传至珠三角地区，至2014年11月除新疆近几个月有报告外，西北地区尚无病例发生；而我国香港和台湾以及马来西亚仅有输入性病例。提示，和非典的流行过程不同：其原因除后者经飞沫传播外，尚难以排除我国大陆尤其东、南部沿海仅其邻近中部省区为疫源地之嫌。②2013年2月至2014年5月，可追踪的传染源，除家庭内人-人有限传播外，均为家禽，且多为市场活禽。③在流行高峰期，即2013年4月18日至23日，我国和WHO进行联合调查的公开报告（http://www.moh.gov.cn/mohwsyjbgs/h7n9/list.shtml）内“动物健康”一栏中，详细叙述了对家禽、野鸟和患者周边活禽市场及其环境中“H7N9病毒”检测结果，现摘录其大部分内容如下：“截至4月22日，农业部门在2582个活禽市场，8798个家禽养殖场，337个家禽屠宰场，341个野生鸟类栖息地，227个猪屠宰场和633个环境监测点进行了采样。来自全国22个省份，一共218 344个样本接受了检测。这些样品分别采自3个监测区域……。初步数据表明……其中，39份从活禽市场采集到的阳性拭子标本中分离到了病毒：20株来自上海，12株来自江苏，6株来自浙江，1株来自安徽。在江苏南京野生鸽子的标本里也分离到一株病毒。没有血清标本呈阳性。在对上海首个确诊病例和疑似家庭聚集性病例进行感染来源调查的过程中，这些家庭成员经常光顾的一个活禽市场的环境标本中检出H7N9 PCR阳性。此外，确诊病例居住地1.5 km范围内的其他4个活禽市场的禽类身上也检出了H7N9禽流感病毒。”此结果虽是初步的，但足以耐人寻味！为何除地处长三角之南京“野生鸽子”外，全国各地300多个野生鸟类栖息地均阴性？为何感染来源均来自活禽市场？为何“确诊病例居住地1.5 km范围内的其他4个活禽市场的禽类身上也检出了H7N9禽流感病毒”？在此，不必仔细分析，仅将此点和前述②的内容综合考虑，即可做出3点初步判断：第一，我国h-H7N9 AIV在国内“传染源栖居地”的分布很不寻常；第二，该“传染源栖居地”内很可能不存在h-H7N9 AIV之贮存宿主；第三，我国肯定存在h-H7N9 AIV之贮存宿主，但可推断不会寻找到h-H7N9 AIV之直接祖先！由此，也可经逆向推理认识：恐怖主

义者是如何施放 h-H7N9 AIV 之类的人制人新种病毒生态型基因武器。④从 WHO 网上不久前公布的"人感染 H7N9 禽流感确诊病例的时间分布(2013.2.19-2014.6.27)"(图4-8)。可见 h-H7N9 AI 流行已一年多,春季或冬春季呈明显的季节性高峰,而两峰之间为散发状态。由此反映其和 SARS 不同:h-H7N9 AIV 必定存在贮存宿主。故和上述③中之判断一致,其推理也应相同。

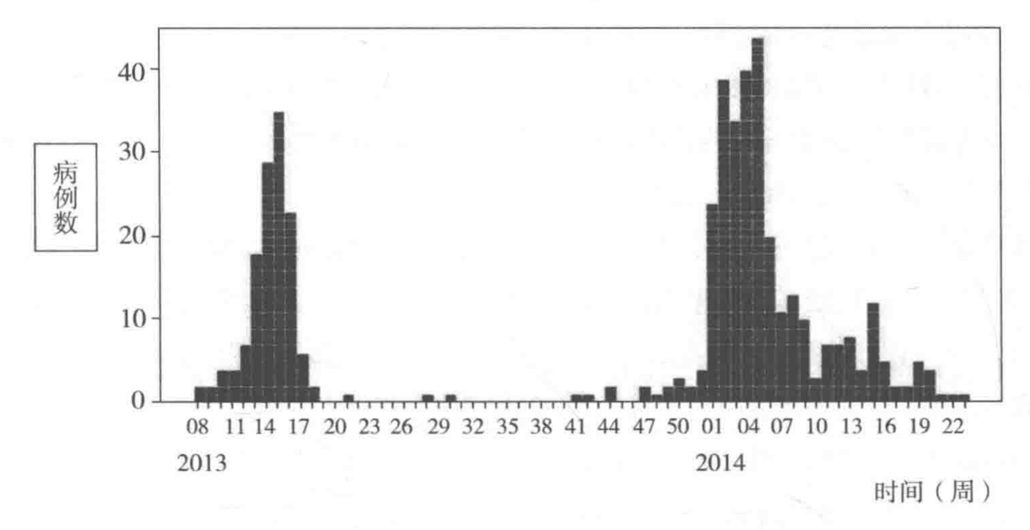


图4-8 人感染 H7N9 禽流感确诊病例的时间分布(2013.2.19-2014.6.27)

(引自:WHO,http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/influenza_h7n9/riskassessment_h7n9_27june14.pdf? ua=1)

4. 攻击之结局 从上述记载的 h-H7N9 AI 发病和死亡状况,即可知道人制人新种病毒生态型基因武器的严重后果。但从图4-7最后一张多媒体图片可见,恐怖主义者施放此类基因武器最残酷、最无人性之处,其将在靶地区,人为建造永久性的"自然疫源地"或"经济疫源地"或"特殊疫源地",使其世代流行、永无宁日,直至该地区人民将其消除甚至消灭!

再和我国 h-H7N9 AI 的流行过程和研究进展相比较。从"3. 施放方式"的内容显示如下。①"39份从活禽市场采集到的阳性拭子标本中分离到了病毒",可见"活禽"为主要传染源;而且,在同一份报告内还指出:有可靠流行病学史的病例中,"72%报告近期与活禽有一定接触"史,亦支持此病原学结果和判断。尤为重要者,"在江苏南京野生鸽子的标本里也分离到一株病毒"和2014年5月报告之上海崇明东平国家森林公园健康树麻雀分离到1株 H7N9 AIV,可见,对 h-H7N9 AIV 而言,我国已初具"疫源地"性质。②图4-8的 h-H7N9 AI 的流行曲线反映,在2013—2014年一年多时间内,呈现"高强度流行-散发-高强度流行-散发"持续流行之态势,和 SARS 的一过性流行完全不同。③迄今,已如前述,h-H7N9 AI 的流行仅发生在我国大陆;台湾和香港以及马来西亚仅有大陆的输入性病例,因而进一步显示我国之"疫源地"仅限于大陆。

总之,人制人新种病毒生态型基因武器的攻击结局,可从我国 h-H7N9 AI 的流行中窥见某些端倪。

(三)致病基因基因武器

致病基因基因武器(Genetic weapon with the pathogenic gene),指针对人类某特定个体或群体的某种基因或免疫状态,经基因改造与研制技术结合包括一系列动物群体性适应试验等方式,制成使上述特定对象致病或致命之人工致病基因并武器化。

致病基因基因武器的靶目标虽为特定个体或群体,但从目前实际情况判断,可能主要为前者。因为若对群体,如某种族,所谓"种族基因武器"可能存在诸多限制:如,设计和制造技术尚需某些突破;政治和舆论压力非同一般等。

其研制手段,在"第三节当代基因武器的研制手段"内描述的、安文"提高生物威胁的6种手段"中"设计特定基因""基因治疗作为武器(包括'隐形病毒基因武器'与'致癌基因武器')""精心设计的疾病" 等方法均可为生产"致病基因基因武器"的途径。

致病基因基因武器施放方式及其结局,在上述内容均已多处较详细论及。

如同世上任何事物一样,恐怖主义者和正义者之间的关系也存在两面性:正义者,可"魔高一尺,道高一丈";而恐怖主义者,可"道高一尺,魔高一丈"。尤其是毛主席将世上庞然大物形象地比喻:在战略上为"纸老虎"、战术上为"铁老虎"。而我们的任务是如何以适当的方式应对既是"纸老虎"之"铁老虎"!

第五节　当代基因武器的防控策略

一、破解当代基因武器的障碍及其应对策略

(一)破解当代基因武器的障碍

当代基因武器作为高科技、超现代、"超战争(见下)"的新型武器,在学术上加以破解时必然受到一定的限制。主要为三点。

1. 由于涉及全球安全和战略意图,因此其研制方法、计划、进展和结果均为顶级机密,难以获取。故有些书籍或网上资料,大多陈旧、零碎、片断,不全面、无系统,且来源不清,除正式论文和解密文件外,其可靠性差。

2. 当今,随着生物高科技发展迅速、更新不断,当代基因武器的类型愈趋先进与诡秘,杀伤力更加致命与强大,战剂品种则不断翻新,施放方式则日益简便和隐蔽。

3. 当代基因武器已经不限于军事目的,已作为实施恐怖主义者利益和政治战略之重要选项。虽然,很多军事家、政治家将战争定位为政治之延续,即战争是解决恐怖主义者和正义者、国与国、民族与民族、地区与地区之间政治、经济等矛盾或争端的重要甚至最终手段,但从古至今运用一种单一武器解决这些争端,尚十分罕见。故笔者将此类单一武器称之为"超战争"武器;在此,"超战争"尚有另一层含义,即当代基因武器可在和平时期秘密运用。

所以,面对如此新颖尖端、变化无常的超战争武器的研制、施放及其所致疾病发生、流行过程与结局,学者尤其是承担疾病流行防控任务的医务卫生工作者必将更加难以应对。故我们应树立信心、自力更生、团结一致、顺应其变、突破陈规、创新思维,制订应对策略和措施。

(二)破解当代基因武器的策略

应对"超战争"武器,我们不应将其和"战争"联系一起,即在和平时期,尤其是我国受到遏制、国家主权正在或已经受到恐怖主义者威胁之时,发生不明原因或新品种病原体所致疾病较大规模流行之时,应该考虑有否遭受当代基因武器袭击之可能性。

所以,破解当代基因武器的策略,应从两方面考虑:学术和战略态势。

1. 破解当代基因武器的学术策略 本章已提及,'朝鲜战争期间判定敌人发动细菌战之原则为:其所致流行不符合其自然史!在此应该强调,此原则至今仍适用,是鉴别任何类型基因武器之"金标准"!'

笔者思之,虽已有"金标准",但实践时必须应用"具体情况具体分析"之哲学思维。即随着时代和科技之发展,其含义应有所拓展,然而为应对目前状况,有必要在此给出定义并对其策略进行更具体的描述。

定义:判定当代基因武器的"金标准"(The gold standard to recognize contemporary gene weapons)是,突然出现之新疾病的发生和(或)流行过程及其病原体或致病基因之进化历程均不符合其各自相应的自然史!

策略:内涵至少应包括如下几点。

(1)引起疾病发生或流行的病原体或致病基因为人工新品种,故其不符合同类同种的自然进化史。以 SARS-CoV 为例,现学术界均认为 Bt-SLCoV Rp3(DQ071615)株,为其共同祖先,且和 SARS-CoV 的进化平均间隔时间为 4.08 年。由此,完全可以推断,如此短的进化时间不符合自然进化之规律,即其为非自然起源。

(2)在自然界或人群内,不存在引起疾病发生或流行的病原体或致病基因的直接祖先。因为其为实验室内生产之人工新品种,故直接祖先不可能在自然界或自然人群内,唯一贮存地是在恐怖主义者之实验室内。

由此可见,为何至今尚未发现 SARS-CoV 直接祖先之缘由。若在自然界内最终不能寻见 h-H7N9 AIV 之直接祖先,则是认定其为“人制人新种病毒生态型基因武器”之主要理由。

(3)引起疾病发生或流行的病原体或致病基因之传入方式反常。本书已论及,SARS 首发在靠海的珠三角;作为传染源的果子狸仅存在于广州和深圳两处市场,而市场内的野生动物可以和国外在私下流通。

(4)其引起的疾病或流行,不符合自然进化之病原体或致病基因所致疾病的流行病学和临床医学规律。本书多处已提及,SARS 的流行过程与特征及其流行进程中临床特点之变化和同类传染病,甚至迄今人类急性传染病明显反常。也已论述,h-H7N9 AI 的诸多流行病学规律和已出现的多种 A 型 h-AI 的反常,故不能除外其为非自然起源。

2. 破解当代基因武器的生物恐怖战略态势分析 由于当代基因武器可在,甚至常在和平时期使用,因而必须对突发攻击事件之背景进行分析。本章起始描述的 2001 年 9 ~ 11 月美国“炭疽邮件”之生物恐怖袭击事件,为何至今尚未找出真正的凶手及其幕后策划者,重要的原因是缺乏或忽视对此事件发生之生物恐怖战略背景或企图进行真实地调查和研究。尽管许多秉持正义的学者和学术组织已经并正在继续提供确凿证据,可能亦是徒劳。

2002 年 SARS 流行发生前多年内,我国人民均应记得,已有几起明目张胆威胁我国主权的恐怖主义事件发生。现在很难排除这些恐怖事件和 SARS 流行之间的隐秘联系。

因此,恐怖主义者施放当代基因武器,必然有其不可告人之目的。进入 21 世纪的短短 10 多年内,在国际上有股强大的恐怖主义势力千方百计遏制我国之时,为何连续发生的 SARS 和 h-H7N9 AI 两种新品种、且未见其直接祖先之烈性急性呼吸道传染病均发生在我国?样本虽少,概率却为 100%!这是巧合吗?而在刑侦学上,罕见巧合!在流行病学“透过现象看本质”的分析中,亦难见巧合!

所以,当突发新品种病原体所致烈性急性传染病在全国性流行时,研究国际恐怖主义战略态势必不可少。正如分析案情时,对作案动机的调查十分重要!

二、破解当代基因武器的学术思路

当代基因武器的现状可谓:品种复杂、变化万千、施放无常和结局难测;似乎,世人欲破解其谜则难上难。然而,我们应高度自信。首先,应看到:此类“老虎”虽有“真老虎”之一面,又有“纸老虎”之一面。正义终将战胜邪恶,这为无数历史事实所证明,是颠扑不破之真理!因为,舍此,人类社会不可能发展!

其次,假的必然是假的,绞尽脑汁、费尽心机之伪装亦难以成真。恐怖主义者虽然可以将“非自然起源”模拟得非常像“自然起源”,但终究不可能改变其“非自然进化起源”之本质。仅是恐怖主义者,由于其意识形态和思想方法之历史局限性,总是过高估计自己,低估

人民之智慧；这也为我国人民近二百多年来前仆后继之革命历史和革命成果所反复证明，亦是颠扑不破之真理！

当代基因武器的恐怖主义制造者即使再聪明、再狡猾，其总有漏洞，终将露出狐狸尾巴。第一，恐怖主义者虽然可以将非自然品种之基因及其表象，设计得和自然界与人类社会中的自然进化者极为相似、常人一时甚至长期难以认识和区别。但是，正如我们在多处已论述：自然进化的新发传染病或人体（非致病和致病）基因之自然史和当代基因武器所致传染病或其他疾病之流行特征及其病原体或人体致病基因演变之间，必然存在诸多差别：小至秋毫，大至千里。准确、全面、综合地应用流行病学、病毒学、分子生物学和系统发育学等理论和实践，必将最终揭示其真面目。第二，恐怖主义者研究之目的最终在于应用，故必然有其实验室、试验现场、施放途径甚至靶动物和/或人群群体等，虽然其行动十分秘密和隐蔽，但必将留下蛛丝马迹。

由上可见，我国流行病学工作者应发挥聪明才智和继承前辈勤奋拼搏之精神，利用传染病流行病学理论和哲学方法论之优势，使用下述多种思维方法加以应对：

1. 应用“二分法”和“透过现象看本质”的辩证思维 众所周知，这两种思路为宇宙各种现象进行科学研究的关键分析原则，无论是自觉抑或不自觉，均需遵循此途径，才能发现客观规律，获取真实结果。

仍以非典为例。虽然，流行早期我国大陆（未发表）、香港和美国与其他西方国家陆续发现并确认其病原体为 SARS-CoV，继之在市场果子狸中检出和人 SARS-CoV 同源性极高之狸 SARS-CoV。但发现果子狸虽可作为传染源，尚不是贮存宿主；后又在蝠类内检出和人-狸 SARS-CoV 同源性较高之 SL-CoV，公认其为 SARS-CoV 之祖先，但非直接祖先，且此类蝙蝠亦不是贮存宿主。也即迄今，爆发流行后 10 多年，虽进行了许多研究和接近地毯式的搜索，却仍未寻见直接祖先和贮存宿主。由此，是否表明：在高科技的今天，国内外众多学者无能？是否反映：我们的研究还不到位、还应无休止地深入和无穷尽地扩大，甚至将全球每一寸土地翻遍呢？非也。此并非科学的态度。若我们应用哲学的“二分法”进行考虑：没有结果便是“结果”，即“阴性结果”也为科学结果；换言之，“未发现 SARS-CoV 之直接祖先和贮存宿主，即是真实结果”。犹如上述 2001 年美国“炭疽邮件”生物恐怖袭击事件：没有“结果”即为真实结果，不能解开之“谜”才是最终谜底、才是事实之真相！

2013 年初公开发表了我们的研究结果，在列举了流行病学、临床医学和病毒进化等诸多反常后，“透过现象看本质”，指出“从全新之视角，结合流行病学和生物进化理论，国际上首次阐明：SARS-CoV 经历了逆向进化；自然界根本不存在 SARS-CoV 直接祖先和贮存宿主，故流行后其即从人群和动物界消失。因此建议有关国际机构组织专家委员会，实证自然界和人群中已无 SARS-CoV，并予宣布。”继后，建议“将 SARS-CoV 谓之‘过客病毒（passenger virus）’”。同时，笔者直接写信给某国际组织总干事呼吁此事（参见本书附件二）。

2. 同时应用“演绎法”和“归纳法”的推理思维 我们可将上述各种各类零碎、单篇，甚至片面和局限的信息，结合生物技术之发展趋向和风云变幻之恐怖态势，在相关学术理论指导下，进行整理并对其采取“演绎法”和“归纳法”的推理分析：去粗取精、去伪存真、由此及彼、由表及里，获取其真实之意图，揭示其当代基因武器之本质。

揭示 SARS-CoV 非自然起源，甚至为当代基因武器本质的思维过程，是此种方法之最好实例。

(1)对 SARS 流行，首先映入眼帘的是，猛烈席卷全球一年多后，为何无影无踪？对此，可能普通大众也将如此发问。实际，此问是 SARS 在流行病学上最关键之反常！人类传染病史上，尚未有任何其他传染病如此。所以，可推理：SARS 流行不符合人类传染病自然史，SARS 流行有异常！进一步质疑：引起其流行之病原体 SARS-CoV 产生或起源可能有异常。

(2)SARS 在 2002 年 11 月至 2003 年 7 月连续流行后，为何相隔数月后于 2003 年12 月至 2004 年 1 月发生仅 4 个病例之广州爆发，而后者在流行病学和临床医学特征和前者明显不同。此问又进一步支持上述质疑！

(3)继之，广州爆发后 3 个月，出现北京-安徽的 SARS 实验室感染，共 9 个病例。而其流行病学和临床医学特征和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行完全相同：存在超级传播者，病情严重；死亡 1 人；却和广州爆发明显不同。此又是流行病学和临床医学(实际还包括病毒学和分子进化)之显著反常！

(4)迄今，尚未找见 SARS-CoV 的直接祖先和贮存宿主，和其他人类传染病不同！由此推理：其产生或起源肯定不正常！

(5)SARS-CoV 在 SARS 整个流行过程中，出现一系列重要的“逆向进化”；而后者和病毒的传播力、毒力密切相关。由此解释了上述第(3)点：因为引起广州爆发的 SARS-CoV 已经在人群中“逆向进化”，其传播力和毒力急剧下降；但致北京-安徽实验室感染之病毒为贮存于实验室内的 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行株，未经“逆向进化”，其传播力和毒力仍维持不变！

(6)生物之“逆向进化”常出现在其突然进入新的、不利于其生长发育之环境时。而人体对于 SARS-CoV 即是此类环境；也即 SARS-CoV 不适应于人类。因此，其必然产生“逆向进化”，最后离开人类，是其自然的结局！

(7)SARS-CoV 不适应于人类，产生“逆向进化”，终于离开人类，证明其为非自然进化、由蝠类 SL-CoV 或其类似的其他 SL-CoV 经实验室基因改造与初步动物适应-传代试验等方法研制而成。

上述用之于推理的数值、证据和事件，均各自一一摘录于 SARS 发生后发表于国内外杂志、国际机构之公报和文件；然后进行相关有目的地整理，同时思考各种推理和综合分析，最终获得以上诸点。

3. 应用相互比较的方法（“事件比较法”），判定事物之真伪和特点 “有比较，才能有鉴别”，这可能为古今中外概莫能外之信条；亦是流行病学必用之分析方法。然而，应用比较法时，必须满足一前提：被比较的事物之间具可比性。否则，取得的结论可靠性差甚至不可靠。诚然，在进行定量比较时，可比性要求高，必要时需排除混杂因素；定性比较时，可比性要求低些。

除了在上述第2点应用“演绎法”和“归纳法”的推理内容中提及的简单比较外，我们在判定SARS-CoV为非自然起源时，亦应用了更为具体细致的“比较法”，笔者暂称之为“事件比较法”：

（1）*流行过程之比较*：和SARS不同，20世纪80年代后新发传染病，如艾滋病，多型病毒性肝炎，亨尼帕病毒属（genus Henipavirus）的亨德拉病毒（Hendra virus，HV）和尼巴病毒（Nipah virus，NV）；再如2009年出现的（猪型）甲型H1N1流感以及2012年出现的中东SARS等，自发生后至今仍在最初流行的多国及其邻近地区或世界上广泛地、不断地爆发和流行。

可见，唯有SARS独立鹤群，完全反常：在世界29个国家或地区持续流行9个月后，仅有1次广州4例轻型无续发的爆发和3起实验室感染；此后10年多无一病例或感染，彻底销声匿迹。

（2）*直接祖先和贮存宿主之比较*：在上述第（1）点中列出的20世纪80年代后新发传染病，除2012年出现的中东SARS虽已有初步结果但尚未完全搞清外，其余各种的贮存宿主和起源均已有研究成果。即使中东SARS是最晚出现的，其病原体MERS-CoV和SARS-CoV同属β冠状病毒（β-CoV），但已经流行病学、病毒学和分子进化研究，初步确认，当地某些种类的蝙蝠和骆驼为传染源，甚至可能为贮存宿主；而且，从目前全球流行病学分布可初步认为：中东为中东SARS之自然疫源地。

由此，可以确定，古往今来，唯有SARS-CoV未在自然界发现直接祖先（h-H7N9 AIV也尚待发现）和贮存宿主。

（3）*进化时间之比较*：多个研究报告检测了SARS-CoV的先祖——蝠Bt-SLCoV至人或果子狸SARS-CoV的最近共同祖先时间（the time of the most recent common ancestor，tMRCA），其结果基本一致。Rp3株和人与果子狸SARS CoV之间的进化间隔时间为4.08（1.45~8.84）年；即Bt-SLCoV Rp3株约出现在1998年8月，人和果子狸SARS-CoV约在2002年9月（2002年1~12月）。故和首例SARS在2002年11月16日的出现时间基本吻合，也即分子进化研究结果和流行实际符合，结果可信。

而关键是，4.08年的进化时间间隔是在自然界发生的，还是在实验室人为的结果？为回答此问，我们用艾滋病之病原体HIV做比较。虽然HIV属反转录病毒科（Retroviridae），而SARS-CoV属冠状病毒科（Coronaviridae），但尚有一定的可比性，如两者均属RNA病毒，均由动物病毒进化后传至人。

HIV-1 的最早贮存宿主为黑猩猩(chimpanzees),其祖先病毒为非洲中部或中西部黑猩猩(pantroglodytes troglodytes)携带的猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus,SIV)(SIVcpz);而 SIVcpz 的最近共同祖先时间为 1492 (1266—1685)年;此后在黑猩猩等动物中进化并跨越生物品种屏障,形成 HIV-1;后者又至少经 3 次各自独立跨种途径由黑猩猩传入人群,其中,也可能有 1 ~2 种经大猩猩(gorilla gorilla)传至;而 HIV-1 各群 tMRCA 也各不相同:M、N 和 O 群分别为 1921 年(1908—1933),1963 年(1948—1977)和 1920 年(1890—1940)。因而,HIV-1 的起源十分曲折十分久远。

可见,HIV-1 进化,由先祖病毒至直接祖先再传至人,经历约 700 年时间;相比之下,SARS-CoV 由先祖病毒(如 Rp3 株)至直接祖先(在自然界未见)再传至人仅约 4.08 年,是否太短了? 是否此种进化不可能发生在大自然?!

经过上述比较分析,综合各种证据,不难得出结论:SARS-CoV 为非自然起源,其直接祖先应在某个实验室内,应为一种当代基因武器战剂。

安文的结语是:“有人说:‘第一次世界大战是化学,第二次世界大战是核,而第三次世界大战将是上帝禁止使用的生物’”。其意无非两条:其一,第一、二次世界大战分别是化学战、核战;而第三次世界大战必定是生物战。其二,这些先进武器是决定战争胜负的关键因素,很可能安上校认为,是两颗原子弹最终促使日本投降,奠定了二战之胜利;故将在第三次世界大战中取胜的核心为生物武器!

然而,笔者认为:非也! 虽然安文的结语言简意赅地指出,化学、核和生物三种武器是或将是在二次和未来第三次世界大战中威力无比之战争工具;也由此,在本书撰写过程中,笔者临时决定但精心增写了此章,以使国人和学者们了解和重视“当代基因武器”,做好“召之即来,来之能战,战之能胜”之准备;但是,应该指出,无论战时还是平时,决定斗争胜负的主要因素,绝不是几件包括高技术在内的先进武器,而是人心向背! 这是人类社会的发展史和战争史无数次证实的宇宙规律。人民推动着社会洪流滚滚向前,“顺之者昌,逆之者亡”!

(徐德忠　李锋　吴秀华)

参考文献

[1] 马静,杨瑞馥,张文福,等. 美国炭疽事件的医学处置及启示[J]. 解放军预防医学杂志,2004;22(6)407-409.

[2] Hugh-Jones ME,Rosenberg BH,Jacobsen S. Evidence for the Source of the 2001 Attack Anthrax[J]. J Bioterr Biodef,2012,S3:008.

[3] Hugh-Jones ME, Rosenberg BH, Jacobsen S. The 2001 anthrax attack: Key observations[J]. J Bioterr Biodef, 2011, Special Issue 3.

[4] Bush LM1, Perez MT. The anthrax attacks 10 years later[J]. Ann Intern Med, 2012, 156(1 Pt 1): 41-44.

[5] Shoham D. Influenza type A virus: an outstandingly protean pathogen and a potent modular weapon[J]. Crit Rev Microbiol, 2013, 39(2): 123-138.

[6] Oliveira BC, Liberto MI, Barth OM, et al. Construction of yellow fever-influenza A chimeric virus particles[J]. J Virol Methods, 2002, 106: 185-196.

[7] Herfst S, Schrauwen EJ, Linster M, et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets[J]. Science. 2012, 336(6088): 1534-1541.

[8] Friedman D, Rager-Zisman B, Bibi E, et al. The bioterrorism threat and dual-use biotechnological research: an Israeli perspective[J]. Sci Eng Ethics. 2010, 16(1): 85-97.

[9] Imai M, Watanabe T, Hatta M, et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a ressortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets[J]. Nature, 2012, 486(7403): 420-428.

[10] Corman VM, Müller MA, Costabel U, et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections[J]. Euro Surveill, 2012, 17(49). pii: 20334.

[11] Zaki AM, van Boheemen S, Bestebroer TM, et al. Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia[J]. N Engl J Med, 2012, 367(19): 1814-1820.

[12] Ge XY, Li JL, Yang XL, et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor[J]. Nature. 2013, 503(7477): 535-538.

[13] Ainscough M. Next Generation Bioweapons: The Technology of Genetic Engineering Applied To Biowarfare and Bioterrorism[J]. Counterproliferation Papers No. 14 2002. Available: http://www. au. af. mil.

[14] Memish ZA, Mishra N, Olival KJ, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats, Saudi Arabia[J]. Emerg Infect Dis. 2013, 19(11). doi: 10. 3201/eid1911. 131172.

[15] Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium(2004). Molecular Evolution of the SARS Coronavirus During the Course of the SARS Epidemic in China[J]. Science, 303: 1666-1669.

[16] Xu RH, He JF, Evans MR, et al. Epidemiologic clues to SARS origin in China[J]. Emerg Infect Dis. 2004, 10(6): 1030-1037.

[17] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (revised 26 September 2003). http://www. who. int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index. html.

[18] XU De-Zhong, Bernard CK CHOI, Zhang Lei, et al. R. sinicus should be reservoir of SL-CoV but not SARS-CoV: critical comments on Ge et al's paper in Nature[J]. Negative, 2014, 5(2): 25-27.

[19] WHO. H5N1 avian influenza: Timeline of major events, 17 December 2012: H5N1_avian_influenza_update_20121217b[EB/OL]. http://www. who. int/influenza/human_animal_interface/en/

[20] WHO. Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection[J]. Weekly

epidemiological record,2006,81(26):249-257.

[21] 徐德忠,张扬,王波,等.人感染H7N9禽流感分布异常及其异常起源之可能[J].中华疾病控制杂志,2013,17(8):645-650.

[22] 中国-世卫组织联合考察上海防控人感染H7N9禽流感(4月20~23日)通报会实录[EB/OL]. http://www.moh.gov.cn/mohgjhzs/s3578/201304 a6bb914e8bb8424dafbfae 1af30 13bdb.shtml

[23] Zhou J, Wang D, Gao R, et al. Biological features of novel avian influenza A(H7N9) virus[J]. Nature. 2013 Jul 3. doi:10.1038/nature12379. [Epub ahead of print]

[24] Xu C, Havers F, Wang L, et al. Monitoring avian influenza A(H7N9) virus through national influenza-like illness surveillance, China. Emerg Infect Dis [Internet]. 2013 Jul [date cited].

[25] Sedyaningsih ER, Isfandari S, Setiawaty V, et al. Epidemiology of cases of H5N1 virus infection in Indonesia, July 2005-June 2006[J]. J Infect Dis, 2007, 196(4):522-527.

[26] Mission Report: China—WHO Joint Mission on Human Infection with Avian Influenza A(H7N9) Virus, 18-24 April 2013. http://www.moh.gov.cn/mohwsyjbgs/h7n9/list.shtml

[27] 徐德忠,孙慧敏,谭雅慧.现在自然界和人群中已不存在非典病毒[J].医学争鸣,2013,4(1):22-26.

[28] 徐德忠,张 磊,孙慧敏,等.SARS CoV非自然起源[J].医学争鸣,2013,4(4):6-9.

[29] 徐德忠,张景霞,张 磊,等.逆向进化:SARS CoV非自然起源之关键[J].医学争鸣,2014,5(1):1-6.

[30] Xu D, Sun H, Su H, et al. SARS coronavirus without reservoir originated from an unnatural evolution, experienced the reverse evolution, and finally disappeared in the world[J]. Chin Med J (Engl), 2014, 127(13):2537-2542.

[31] Zhao B, Zhang X, Zhu W, et al. Novel avian influenza A(H7N9) virus in tree sparrow, Shanghai, China, 2013[J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(5):850-853.

[32] Cotten M, Watson SJ, Zumla AI, et al. 2014. Spread, circulation, and evolution of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. mBio 5(1):e01062-01013.

[33] WHO. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003-2009, http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/EN_GIP_20140124 Cumulative-NumberH5N1cases.pdf? ua=1.

第五章 现在自然界和人群中已无 SARS 冠状病毒及其原因

第一节 冠状病毒和 SARS 冠状病毒概述

一、冠状病毒分类和 SARS 冠状病毒

冠状病毒（coronavirus, CoV）为有包膜的正链 RNA 病毒，蛋白组成均包括刺突蛋白（spike, S），囊膜蛋白（envelope, E），包膜蛋白（membrane, M）和核壳蛋白（nucleocapsid, N）。此节有关内容，参见本书第七章。

发现的第一种冠状病毒是禽类传染性支气管炎病毒（avian infectious bronchitis virus, IBV），1937 年由 Beaudette 和 Hudson 从患呼吸道疾病的鸡中分离出。此后，20 世纪 40 ~ 50 年代，研究者又检出鼠肝炎病毒（murine hepatitis virus, MHV）。随后分离并检测到两种人冠状病毒：HCoV 229E、HCoV OC43 原型株。

冠状病毒尚包含许多动物冠状病毒。依据抗原性的分析，曾将冠状病毒分为 3 群（表 5-1）。

表 5-1 冠状病毒抗原群各毒株及其宿主与所致疾病

抗原群	病毒名称/分离株	宿主	致病情况
第 1 群	人冠状病毒（human coronavirus 229E, HCoV-229E）	人	普通感冒
	人冠状病毒 HCoV NL-63/NL	人	呼吸道感染
	猪传染性胃肠炎病毒（transmissible gastroenteritis virus, TGEV）	猪	呼吸道、消化道感染
	猪流行性腹泻病毒（porcine epidemic diarrhea virus, PEDV）	猪	呼吸道、消化道感染
	猪呼吸道冠状病毒 PRCoV	猪	无明显致病性
	猫传染性腹膜炎病毒 FIPV	猫	腹膜炎、肺炎、脑膜炎等
	猫肠道冠状病毒（feline coronavirus, FCoV）	猫	幼猫腹泻
	犬冠状病毒（canine coronavirus, CCoV）	犬	肠炎
	蝙蝠冠状病毒 HKU2	蝙蝠	致病性不清楚

续表

抗原群	病毒名称/分离株	宿主	致病情况
第 2 群	人冠状病毒(human coronavirus OC43,HCoV-OC43)	人	普通感冒
	人冠状病毒 HCoV HKU1	人	呼吸道感染
	鼠肝炎病毒(murine hepatitis virus,MHV)	鼠	肝炎、肠炎、脑脊髓炎
	大鼠冠状病毒(rat coronavirus,RtCoV)		
	牛冠状病毒(bovine coronavirus,BCoV)	牛	肠道感染
	蝙蝠冠状病毒 HKU1	蝙蝠	致病性不清楚
	严重急性呼吸道综合征冠状病毒(severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus,SARS-CoV)	人、果子狸	呼吸道、消化道、神经系统感染
	中东呼吸系统综合征冠状病毒(middle East respiratory syndrome coronavirus,MERS-CoV)	人、骆驼	呼吸道感染,常伴随肾功能衰竭
第 3 群	传染性支气管炎病毒(infectious bronchitis virus,IBV)	鸡	支气管炎
	火鸡冠状病毒(turkey coronavirus,TCoV)	火鸡	呼吸道、消化道感染

自 2011 年起,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses ,ICTV) 将冠状病毒亚科分为 α、β、γ、δ 四属。研究者依据 ICTV 分类,使用 clustalX2. 0. 12 软件采用邻近-连接法(Neighbour-Joining method)聚类,生成冠状病毒系统聚类树(图 5-1)。

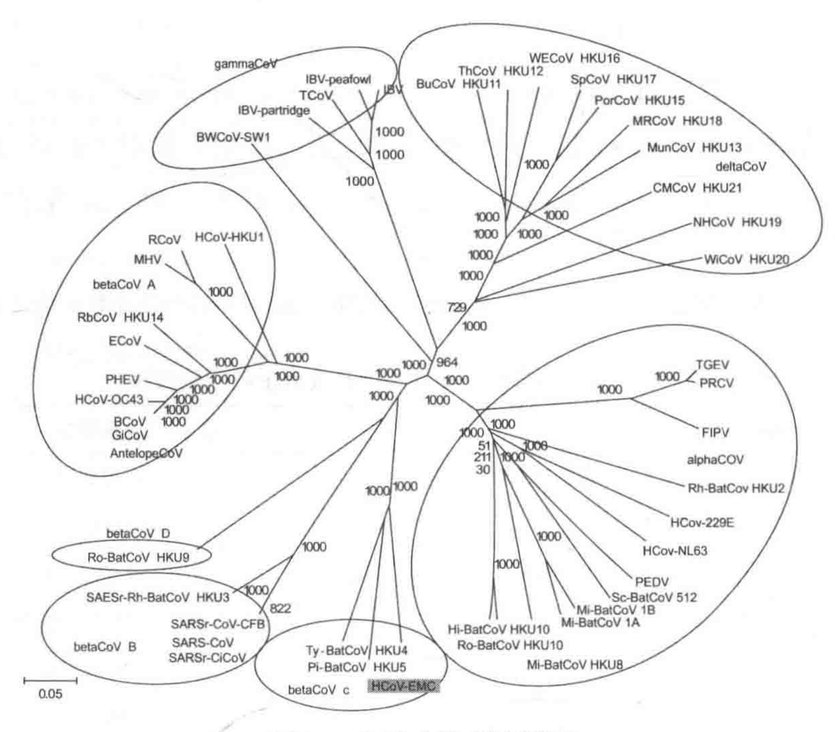


图 5-1 冠状病毒系统聚类树

(引自:Chan JFW,Li KSM,To KKW,et al. Is the discovery of the novel humanbetacoronavirus 2c EMC/2012 (HCoV-EMC) the beginning of another SARS-like pandemic? J Infec,2012,65:477-489.)

2002年11月在我国广东佛山市首次出现一种罕见的肺炎，随后在广东河源、中山、深圳、顺德等地相继有类似病例发生。2003年2月下旬，世界卫生组织（WHO）意大利籍传染病专家Carlo Urbani博士，首先意识到这是一种新发传染病，并向WHO发出疫情报告。随后2周，香港、加拿大和新加坡多地出现疫情并迅速流行。2003年3月12日WHO将该病命名为“严重急性呼吸综合征（severe acute respiratory syndrome，SARS）”。

2003年4月12～16日，加拿大、美国、中国香港、中国大陆先后公布了SARS病原体（病毒株分别为：Tro2，Urbani，HKU-39849，CUHK-W1，BJ01）全基因序列。2003年4月16日，WHO正式将SARS的病原体命名为SARS冠状病毒（SARS coronavirus，SARS-CoV）。为纪念以身殉职的Urbani博士，美国疾病预防控制中心（CDC）将该中心分离株命名为Urbani株。

SARS-CoV是发现的第3种人冠状病毒。其属于巢状病毒目（order：*Nidovirales*）、冠状病毒科（family：*Coronaviridae*）、冠状病毒亚科（Subfamily：*Coronavirinae*）、β冠状病毒属（Genus：*Betacoronavirus*）中β冠状病毒属1（*Betacoronavirus* 1）。SARS-CoV基因为单股正链RNA，全长约为30 kb，编码包括复制酶，S、M、E、N等蛋白。研究发现S蛋白存在受体结合域，可以与细胞表面的血管紧张素转换酶2（angiotensin-converting enzyme 2，ACE2）受体结合。

SARS-CoV较其他呼吸道病毒对外界的抵抗力强；耐冷不耐热，耐干燥。各种环境下存活力强：空气中3小时，24℃下在塑料、玻璃、马赛克、金属、布料、复印纸等多种物体表面可存活2～3天，患者痰液和粪便里能存活5天以上，尿液里至少可存活10天，血液中存活约15天。紫外线60分钟，75%乙醇、含氯消毒剂5分钟可使SARS-CoV灭活；其对碘伏、过氧乙酸敏感；但对胃酸有较强的抵抗力。

至2004年底有3个实验室报告了第4种人冠状病毒（分别命名为NL63、NL、New Haven）。2005年初中国香港大学报道了第5种人冠状病毒：HKU1。研究发现，NL63株广泛分布在世界各地，常见于儿童；HKU1株首次从慢性肺病的成人患者中分离获得，亦呈全球分布；NL63和HKU1的致病性与229E和OC43类似。

2012年12月发现第6种人冠状病毒，次年5月WHO正式命名为中东呼吸系统综合征冠状病毒（Middle East respiratory syndrome coronavirus，MERS-CoV）。截止2014年11月3日，WHO公布共有实验室确诊MERS病例897人，死亡325人（36.2%）。笔者提议将MERS称“中东SARS（the Middle East severe acute respiratory syndrome，ME-SARS）”更合适，无论在学术上还是对防控实践更有利（详见本书第四章）。然而，为方便起见，本书仍主要用“MERS”。

二、SARS-CoV的动物宿主和贮存宿主之探讨

虽然SARS在全球流行不久，研究者很快确认病原体是SARS-CoV，但探索SARS-CoV

动物贮存宿主的过程却并不顺利。最初香港科学家在果子狸检测到人类 SARS-CoV 同源性极高之冠状病毒(狸 SARS-CoV),研究者开始探讨果子狸作为 SARS 动物传染源(source of infection),甚至 SARS-CoV 贮存宿主(reservoir)的可能性。但许多研究仅证实,在 SARS 流行时,果子狸可作为 SARS 的传染源;而流行终止后,再未在果子狸内分离到 SARS-CoV。因而如前述,我们将果子狸谓之为 SARS 的“特定传染源”或“临时传染源”,更不可能为贮存宿主。

此后,查寻 SARS-CoV 传染源和贮存宿主之学者将目光聚焦于蝙蝠。然而,研究者 2004—2005 年在广州及广州野生动物市场收集来自广州及周边地区的蝙蝠 905 只,收集蝙蝠咽拭子 813 份、血清 524 份、肺组织 853 份及直肠粪便 853 份标本。检测结果却显示,9 种 905 只蝙蝠共 3043 份标本均未分离到 SARS-CoV 或 SL-CoV。而 2005 年有学者发现从蝙蝠体内分离的冠状病毒基因组核苷酸序列与人类 SARS-CoV 基因组同源性高达 92%,S 基因同源性为 64%,P、E、M 和 N 蛋白的同源性在 96% ~100%;分子进化分析表明,蝙蝠体内的 SARS 样冠状病毒(SARS-like-CoV,Bt-SL CoV)与人、果子狸 SARS-CoV 属于同一进化分支。随后,科研工作者又在普通长翼蝠、大足鼠耳蝠及中华菊头蝠等蝙蝠内分离到Bt-SL-CoV,其与 SARS-CoV 基因同源性均很高。尤其是进化分析显示,中华菊头蝠的 Bt-SL CoV Rp3(DQ071615)株为 SARS-CoV 的共同祖先,却不是直接祖先,前后两者之间存在4.08年的进化时间间隔。

尽管目前分子检测技术先进,遗传进化分析方法功能强大,但是全球科学家至今尚未揭示 SARS-CoV 的直接起源及贮存宿主,究其原因有许多值得深思之处。其中之一,为本书第一章做了较详细介绍的:东西方流行病学学术界对自然疫源性疾病和人兽共患病理论的不同认识。自然疫源性疾病的概念和作用,已在该章做了较详细介绍。由于 SARS 在自然界未发现其直接祖先和贮存宿主,因此其不能属于自然疫源性疾病。

翻开人类传染病的发展史,可见每种人类自然疫源性疾病均在特定的自然景观下,经其病原体在相应动物(宿主和贮存宿主)或动物(宿主和贮存宿主)-媒介(生物或非生物)间循环往复、漫长进化的流行过程,当人类进入此自然景观后,又经动物(携带该病原体之宿主和贮存宿主)-媒介(生物或非生物)-人群间长期进化和适应,才能引起人类发病;继后,尚需相当长时间的适应进化过程,才能完全适应于人类。流行方式也才能经病原体(变异)-媒介-人类(有关组织和免疫系统等适应性改变)相互作用,逐渐进化演变至具有限的人-人传播的同时主要为携带病原体之动物或人(传染源和/或贮存宿主)-(媒介)-人的传播;最终不能排除如下结果:又经漫长地(按千年万年甚至更长时间计)进化,演变至不依赖于任何动物传染源或动物媒介的完全人-人传播,成为人类疾病,该病原体却在动物界消失。而 SARS 的流行不符合此自然进化规律。在其爆发后即经密切接触、飞沫(甚至有限的空气)快

速人-人传播,在数月内扩散至全球29个国家与地区;而一年多后,SARS-CoV即从自然界和人群内消失。故SARS绝不是自然疫源性疾病;在此意义上,也进一步表明SARS-CoV是以非自然方式进入人类。

如前所述,西方流行病学中罕见提及自然疫源性疾病。其常论及人兽共患病(zoonosis),后者指人和脊椎动物由共同病原体引起并且在流行病学上存在某种关联的疾病。显然,按其定义,SARS可为人兽共患病。虽然,自然疫源性疾病和人兽共患病理论均是在人类不同民族和传染病斗争中产生的;但若深入思之、推而广之,在揭示SARS-CoV的真实起源方面,和自然疫源性疾病系统理论相比,人兽共患病之概念则稍逊一筹。可能也由此,对自然疫源性疾病相关理论没有深究和/或实践不多之西方学者和国内某些学者,至今仍竭尽全力地在自然界寻找SARS-CoV之直接祖先和贮存宿主,或指鹿为马地将携带与SARS-CoV同源性较高之Bt-SL CoV的某种蝠认作为SARS-CoV之贮存宿主。

众所周知,有比较才能有鉴别。因而,下面将细致比较蝙蝠携带的、包括SARS-CoV和MERS-CoV在内的几种病原体,以更清楚SARS和SARS-CoV之特点和真实起源。

第二节　蝙蝠携带的几种病原体感染之区别与联系

一、蝙蝠携带的多种病原体及其所致疾病主要流行特点

蝙蝠共有19科185属962种,分布遍于全球各地。迄今为止,在蝙蝠体内分离到80多种病毒。目前研究发现能够感染脊椎动物的有25个病毒科,其中10个与蝙蝠有关,主要是RNA病毒。

蝙蝠与人类诸多新发传染病的病原体有着千丝万缕的联系,其中包括最近备受关注的埃博拉病毒(Ebola virus,EBOV),亨德拉病毒(Hendra virus,HV),尼帕病毒(Nipah virus,NV),严重急性呼吸道综合征病毒(SARS-CoV)以及中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)。后两者均属冠状病毒亚科。

EBOV是一种能引起人类和灵长类动物感染,导致以呕吐、腹泻、内出血和外出血为主要症状传染病的病毒。患者病死率高(≥50%)。

EBOV分4个亚型:埃博拉-扎伊尔型(EBO-Zaire,EBO-Z)、埃博拉-苏丹型(EBO-Sudan,EBO-S)、埃博拉-莱斯顿型(EBO-R)和埃博拉-科特迪瓦型(EBO-CI)。不同亚型毒株的致病性存在差异,EBO-Z和EBO-S对人类和非人灵长类动物的致病性和致死率都很高;

EBO-R 对人类无致病性,对灵长类动物具有高致死性;EBO-CI 对人类有明显的致病性,但病死率不高,对黑猩猩的致死率很高。

1976 年埃博拉病毒病(Ebola virus disease,EVD)首次爆发出现在非洲刚果民主共和国(旧称扎伊尔)"埃博拉"河附近,亦因此得名。自 1979 年 EVD 在苏丹爆发后,EBOV 随之神秘地藏匿了 15 年(表 5-2)。1994 年则又在加蓬与科特迪瓦复燃;1995 年又于扎伊尔出现疫情。扎伊尔基奎特(Kikwit)市埃博拉病毒病患者病死率 78%(245/316);在加蓬奥果韦伊温多(OgooueIvindo)发病 46 例,死亡 31 例(病死率 67.4%)。2014 年埃博拉病毒病突然以前所未见的强度和速度发生爆发流行,主要集中在西非几内亚、利比里亚、塞拉利昂及其周边国家和地区蔓延,继后在欧美出现输入性病例及其二代传播受染患者。截至 2014 年10 月 22 日,WHO 公布埃博拉病毒病确诊、疑似和可能感染病例 9936 例,死亡 4877 人,是 1976 年以来疫情爆发病死人数最多的一次;目前疫情仍在蔓延扩展中。

表 5-2 埃博拉病毒病发病分布(1976—2012)

年-月-日	国家	病例数	病死率(%)
2012	刚果	57	51
2012	乌干达	7	57
2012	乌干达	24	71
2011	乌干达	1	100
2008	刚果	32	44
2007	乌干达	149	25
2007	刚果	264	71
2005	刚果	12	83
2004	苏丹	17	41
2003-11-12	刚果	35	83
2003-01-04	刚果	143	90
2001-2002	刚果	59	75
2001-2002	加蓬	65	82
2000	乌干达	425	53
1996	南非-前加蓬	1	100
1996-07-12	加蓬	60	75
1996-01-04	加蓬	31	68
1995	刚果	315	81
1994	科特迪瓦	1	0
1994	加蓬	52	60
1979	苏丹	34	65
1977	刚果	1	100
1976	苏丹	284	53
1976	刚果	318	88

[引自:WHO. 埃博拉病毒病,实况报道第 103 号,2014 年 9 月(http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/zh/),稍加修改]

研究显示,苏丹和扎伊尔的爆发和受污染的针具重复使用有关,人与人之间可以通过体液接触(血液、精液,组织,器官,尿液,粪便等)传播,其中当地葬礼习俗(与死者尸体直接接触的告别仪式)促进该病爆发流行。研究者在对埃博拉病毒的自然来源进行了长期不懈的研究,目前认为非洲居民捕食丛林动物,特别是灵长类动物是导致 EBOV 由灵长类动物传播到人类的主要原因。在非洲当地的血清学调查中发现果蝠(锤头果蝠,富氏前肩头果蝠,小领果蝠)可能是 EBOV 的贮存宿主。其由果蝠排出,感染灵长类动物,人类在捕食/接触患病灵长类动物后导致人与人之间传播。目前,美国 CDC 指出,输入性病例之二代传播受染的医护人员,主要是未严格遵守有关防护规定所致,尤其是脱防护服时使自身皮肤和黏膜暴露于防护服上的污染物。

MERS-CoV 为中东呼吸综合征冠状病毒病(中东呼吸综合征,MERS)之病原体。该病于 2012 年 4 月出现;当年 9 月首次正式报道中东地区发生这种新型冠状病毒病。至今,已流行 3 年多,绝大部分发生在中东地区,其他国家仅存在输入性病例及其续发者。

前文已报告其发病数。2014 年 6 月 9 日,WHO 公布了发病 699 例(不含已于 6 月 3 日在网站公布但尚在核实之中的 113 例)和死亡 209 例的发病日期,呈现其时间分布(图 5-2)。

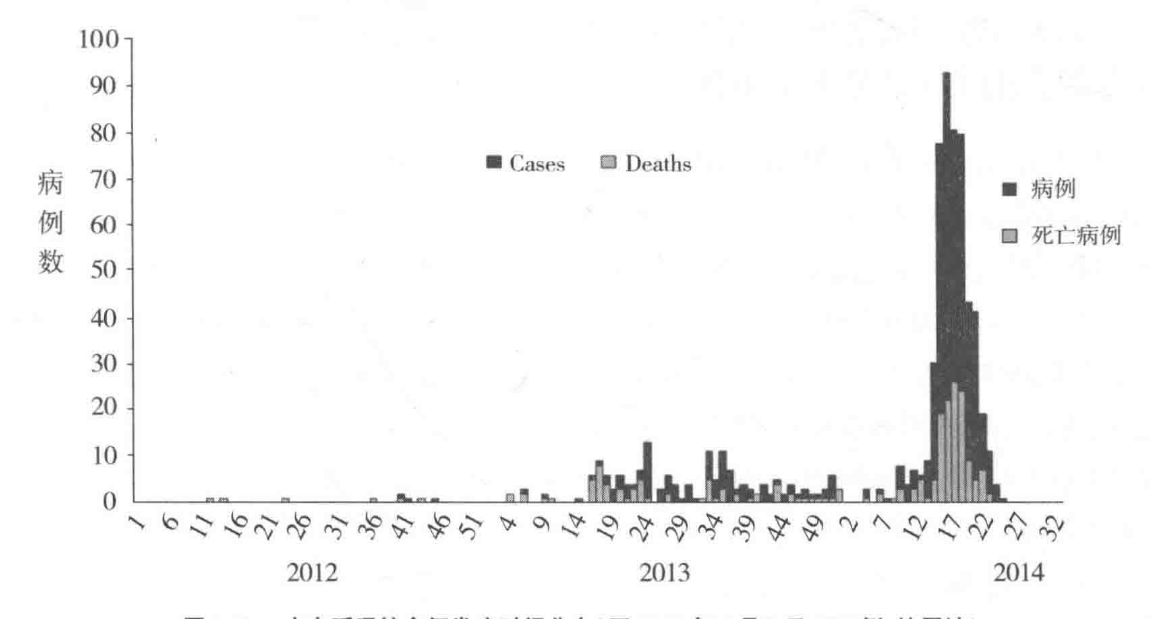


图 5-2　中东呼吸综合征发病时间分布(至 2014 年 6 月 9 日,699 例,按周计)

[引自:WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) summary and literature update-as of 11 June 2014 (http://www. who. int/csr/disease/coronavirus infections/MERS-CoV_summary_update_20140611. pdf)]

由于 SARS 期间研究冠状病毒积累的基础,香港学者很快认定该病毒属于 β-冠状病毒,且聚类分析显示,与蝙蝠的冠状病毒(HKU4,HKU5)有很高的同源性。2013 年 5 月,WHO 将该新型冠状病毒引起的疾病命名为 MERS。MERS 的传播常发生在与受 MERS-CoV 感染

的骆驼接触者中,人与人之间仅发生有限传播。而 SARS-CoV 所致严重急性呼吸道综合征不同:人群内传播迅速,疫情遍及全球:首例虽于 2002 年 11 月发生在我国广东,但 9 个月后,截止 2003 年 7 月底全球共确诊 8098 例,死亡 774 例(9.6%)。对人类健康,尤其是对我国造成的严重危害和巨大损失,罄竹难书。

关于 SARS-CoV 自然宿主或贮存宿主,已如本书多处提及:以流行病学、临床和分子病毒学与系统发育学等诸多专业证据,我们断定:SARS-CoV 为非自然起源,因此,在自然界不存在贮存宿主;虽 Bt-SLCoV,如 Rp3(DQ071615)株,为 SARS-CoV 的共同祖先,但非直接祖先;而直接祖先(亲代 1、亲代 2、……)应在某个(些)实验室内。由于 SARS-CoV 为非自然起源,故进入人类及其近缘动物后即受到"逆向进化"之压力,使其自身的传染性和传播力急剧下降,最终在人类及其近缘动物中消失;又因为在自然界无其贮存宿主,无法生存和传代,只能从地球上消失(除实验室保存之 SARS-CoV 标本及含其直接祖先的材料外)。所以不难得出结论:现在自然界和人群中已无 SARS 冠状病毒!

可见,SARS-CoV 的进化、起源及产生直至消失与 SARS 的发生、流行及其过程直至终止,均和上述诸种病毒及其所致疾病相差悬殊,绝非同日而语。

二、SARS 和其他疾病尤其 MERS 之间在流行病学与临床特征、进化及其起源上的主要差别及其原因

综上可见,SARS-CoV 感染与其他病毒(埃博拉病毒,亨德拉病毒,尼帕病毒,MERS-CoV)病感染最显著的差异是:①发生突然,SARS 流行最早期和极晚期传播力低,大部分时段传播速度快,致病力强。②消失突然,目前在任何动物与人体内均未发现 SARS-CoV 存在。2003 年 3 ~7 月在全球范围流行后,除在新加坡、中国台湾、中国大陆发生 3 起实验室感染事件及 2003 年 12 月至 2014 年初广州发生 4 例轻症患者外,SARS 已经销声匿迹 10 余年,而其他病毒的感染仍不断发生。③经很多学者 10 多年的全球搜寻,至今仍未找见直接祖先和贮存宿主;而除其他病毒外,最晚出现的 MERS,多数学者认为骆驼和蝙蝠为其传染源,而中东某些蝙蝠可能为其贮存宿主。

因此,不禁使人发问:和这些病毒病相比,SARS 究竟有什么特殊性? 和这些病毒相比,SARS-CoV 究竟有什么特殊性?

除前述已论及外,应强调:其原因十分复杂;但若打开这个黑盒子后,读者将发现实际上也非常简单,可用三言两语加以概括。为此,应先将 SARS 和 MERS 做全面比较;因为和其他病毒相比,SARS 和 MERS 均归冠状病毒亚种之同一属(见第四章图 4-5),亲缘关系最近,其结果将最具说服力。虽然已在前面章节将"MERS" 称为"中东 SARS"叙述时讨论过两者之区别,但在此需更加全面、更加深入地加以论证,尤其在两者进化和起源方面,才能得到准

确、真实的结论，即SARS和MERS虽为近缘，但两者之间不仅存在截然不同的流行病学和临床特征，而且存在截然不同的进化过程和起源！

1. 流行过程三环节和分布特征

（1）传染源：人和果子狸确定为SARS之传染源，且以人为主，尤其存在“超级传播者”，传染性极强。然而，如在本书第一章讨论时指出，果子狸并非严格意义上的“传染源”。

①并非所有果子狸、也非“某种某类某型”果子狸即为“传染源”；而能作为SARS“传染源”的“果子狸”，仅为“两个活动物市场”内或另售至餐店之“果子狸”！更令人惊异的，供应货源至“两个活动物市场”之本省或外省饲养场之果子狸，均不带毒甚至无病毒学标志！相反，从此“活动物市场”内果子狸回输至本省果子狸饲养场后，也不带毒！如此类型的动物“传染源”，可能在人类传染病流行史上前所未见。

②2004年初广州爆发后，再未见由“果子狸”传播之SARS病例，即使在当年4～5月京皖（北京、安徽）SARS实验室爆发期间。

由此可见，仅局限于“两个活动物市场”之“果子狸”行使SARS“传染源”的权利仅一年多。故称其为SARS“传染源”十分勉强。为区别于人类传染病流行史上的经典“传染源”，笔者在本书和多篇文献内，将其称为“特定传染源”或“临时传染源”。

MERS的传染源，由于其发病晚10年，故研究尚少。但已公认为骆驼和蝙蝠，后者尚可能为贮存宿主。人也可在一定的条件下作为传染源，即在和患者进行十分密切接触的家庭或医院内，可发生有限的人-人传播。许多文献证实，MERS可发生家庭或医院爆发，甚至在中东以外国家之输入性病例的家庭。

（2）传播途径：SARS之传播途径以飞沫传播和密切接触为主；而且在一定条件下，也可经空气传播。这在第一章内已提及，我国大陆、香港学者和WHO报告中均有案例证实。

MERS则不同，仅以密切接触为主；在家庭或医院爆发时，也由密切接触所致。所以，相对于SARS，其传播力明显弱、传播速度十分慢；对此，已有学者进行了量化研究（表5-3）：SARS基础传染指数（R_0）为MERS之3倍。

上述就SARS和MERS传染源与传播途径做了比较。可见，两者之间虽有共同之处，但差异却相去甚远。而这些异同，再结合流行分布和临床特征进行分析，即可揭示SARS和MERS流行和起源之本质，在此略加阐述：

第一，两者的共同点：少之又少。主要表现：传染源均为动物和人（然MERS，人的作用很有限），传播均可经密切接触途径实现。此外，在临床上也有些相似性，如潜伏期时间接近（表5-3），均存在严重的胸部感染和并发症等。不言而喻，这些不多的共同之处仅是冠状病毒疾病最基本之特点，因两者均为冠状病毒，为同亚种之同一属，且很可能两者之远祖均为蝙蝠某些（种）冠状病毒所致。

第二,两者的差异:天壤之别。SARS 传染源主要为人;而 MERS 则主要为动物,且可能为贮存宿主:因蝠 MERS-CoV 和人 MERS-CoV 基因的最保守区完全同源(图 5-3)。SARS 传播途径主要为飞沫传播,极易实现;而 MERS 仅具密切接触传播:传播力弱,但病死率高(29.9%,图 5-2)。

上述 SARS 和 MERS 相同点极少而差异处极多的原因何在?说明什么?回答此重要问题,应是流行病学家之天职。分析原因之方法仍应为"透过现象看本质":SARS 和 MERS 之间传染源与传播途径之明显不同,真实地反映两者在进化和起源上存在巨大差别。

已如前述,回顾人类自然疫源性疾病或人兽共患病之流行史即可发现,凡是刚引入人群的这类疾病,由于其不适应或稍适应或不完全适应人群,其传播方式单一,传播力弱,流行地域局限于疫源地;但病情严重、病死率高。如上述亨德拉病毒、尼帕病毒等。流行仅 2 年多的 MERS 正符合这些规律,由此表明,其是自然进化和起源的疾病。而 10 多年前流行的 SARS 却非如此,虽具自然疫源性疾病或人兽共患病之个别特点,但刚进入人群,即"人"成为传染源且经飞沫传播,迅速蔓延至全球;而病死率(9.6%)却远低于 MERS。这些均证实:SARS-CoV 虽和 MERS-CoV 有亲缘关系,虽其远祖亦为蝠冠状病毒,但在进化上和 MERS-CoV 十分不同(表 5-3)甚至背道而驰,为非自然进化产生!

表 5-3 SARS 与 MERS 的基础传染指数和平均潜伏期

	基础传染指数(R_0)	平均潜伏期(天)
SARS	3	4.6 (95% CI:3.8~5.8)
MERS	0.8~1.3	5.5 (95% CI:3.6~10.2)

[引自:Cauchemez S, Fraser C, Van Kerkhove MD, et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus: quantification of the extent of the epidemic, surveillance biases, and transmissibility. Lancet Infect Dis, 2014, 14:50-56; Lipsitch M, Cohen T, Cooper B, et al. Transmission dynamics and control of severe acute respiratory syndrome. Science, 2003; 300(5627):1966-1970]

2. 起源和进化 虽然 SARS-CoV 和 MERS-CoV 亲缘关系较近,但其不仅相互之间的关系极为微妙,而且和各自传染源携带之病原体或直接祖先的亲缘关系差异甚大。

Memish 等报告,早于 2012 年 10 月在沙特 Bisha(比莎)发现一种和人 MERS-CoV 同源性很高的蝠(T. perforatus)病毒株(KSA-287-Taphozous perforatus bat, KF493885):后者和该地指示病例分离的 MERS-CoV 株(JX869059-human β-CoV 2c EMC/2012)在基因的最保守区部分高度同源:核苷酸序列 100% 一致(图 5-3)。更令人信服的是,携带病毒株 KSA-287 的蝠(T. perforatus)采集地为离指示病例家 12 km 内的废弃枣椰果园;后者距指示病例工作的五金店又不足 1 km。可见两者的密切程度,因此该作者认为,蝠在人类 MERS 发病中起作用。同时,多篇文献从流行病学和分子病毒学、分子进化角度证实:人可从携带 MERS-CoV 的骆驼受染。所以,目前许多学者均考虑骆驼和/或蝠为 MERS 的传染源甚至贮存宿主。

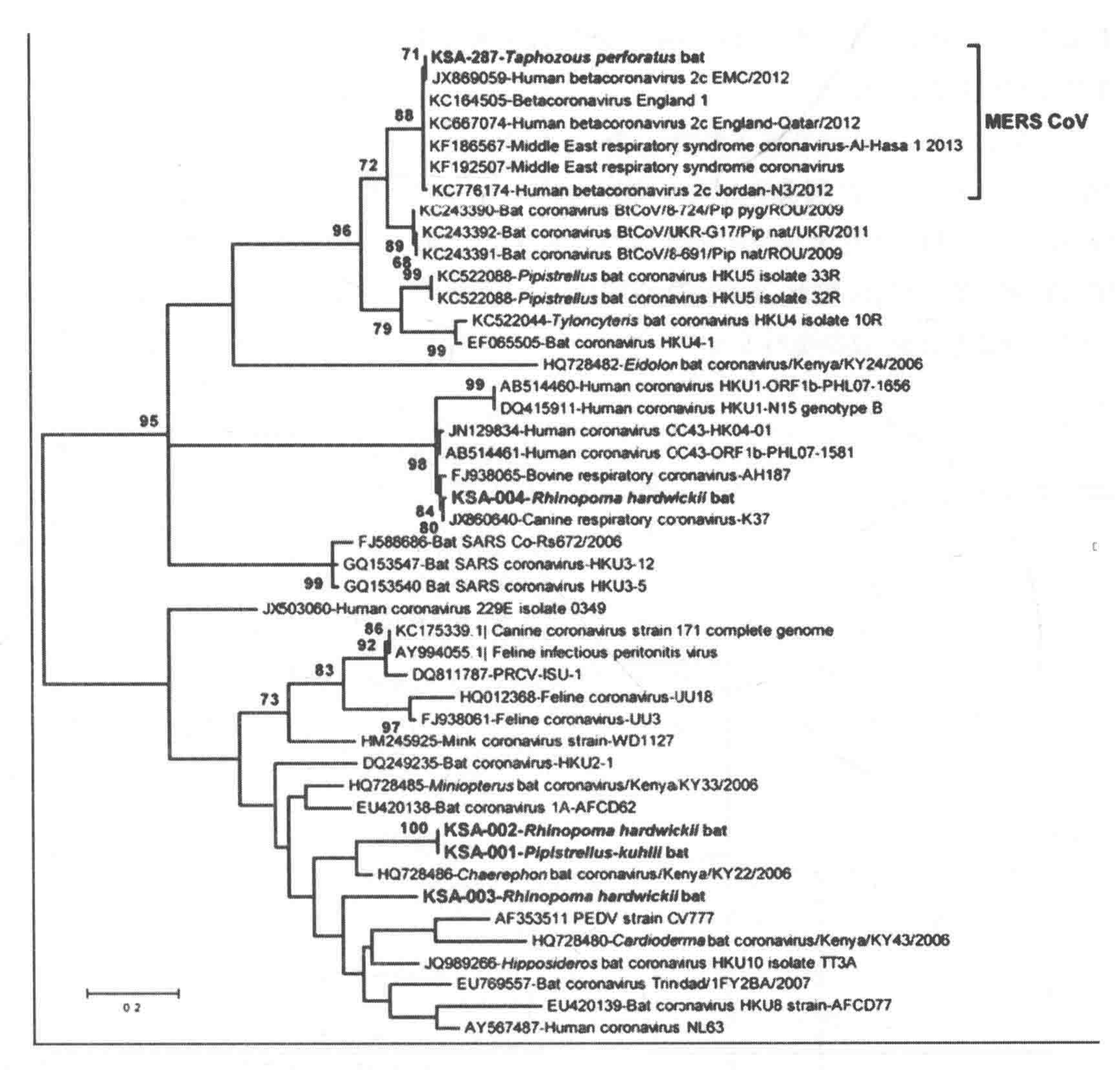


图 5-3　确认的沙特蝠 CoV(KSA-287)和指示病例 MERS-CoV 以及其他 CoV 之间的系统发育树(用部分 RDRP 基因构建)

[引自:Memish ZA,Mishra N,Olival KJ,et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats,saudi arabia. Emerg Infect Dis,2013,19(11):1819-1823]

从 Memish 上述结果尤其是构建的系统发育树,我们发现很多令人深思的各种 CoV 间之亲缘关系,其中不乏可能未引起人们关注的重要现象甚至规律:①上述已提及的蝠病毒株(KSA-287)和该地指示病例的 MERS-CoV 株(JX869059)不仅同源性很高,而且支持度(自举值)不低,达 71%;②KSA-287 蝠株、β-CoV 2c EMC/2012 人株和其他人 MERS-CoV 株不仅亲缘最近,而且支持度达 88%;③蝠-人 MERS-CoV 株和 BatCoV-HKU4、BatCoV-HKU5 的亲缘关系较 Bt-SL CoV(蝠 SARS 样 CoV,FJ588686-Bat SARS Co-Rs672/2006 等)近,图 4-5与图 5-1 的结果亦支持此点;④蝠-人 MERS-CoV 株和 Bt-SL CoV 亲缘关系虽较远,但两者和处于两者之间其他各 CoV 亲缘分枝拓扑结构之可靠性高(支持度达 72% ~96%),故

两者具一定可比性;⑤3 株 Bt-SL CoV 之间亲缘关系最密切,同源性好;而且拓扑结构之可靠性好,支持度达 99%。

然而,可能由于未注意或未涉猎 SARS-CoV/Bt-SL CoV 的特殊进化过程,Memish 未在 SARS-CoV/Bt-SL CoV 属群内加入人-狸 SARS-CoV 株,所以无法分析人-狸 SARS-CoV 和 Bt-SL CoV 之间的进化关系及其和蝠-人 MERS-CoV 之联系。因此,我们在有关冠状病毒系统发育树之研究中,应用 Memish 论文中同样的方法,将人-狸 SARS-CoV 株和 Bt-SL CoV 株同时作为研究对象,结果见图 5-4。

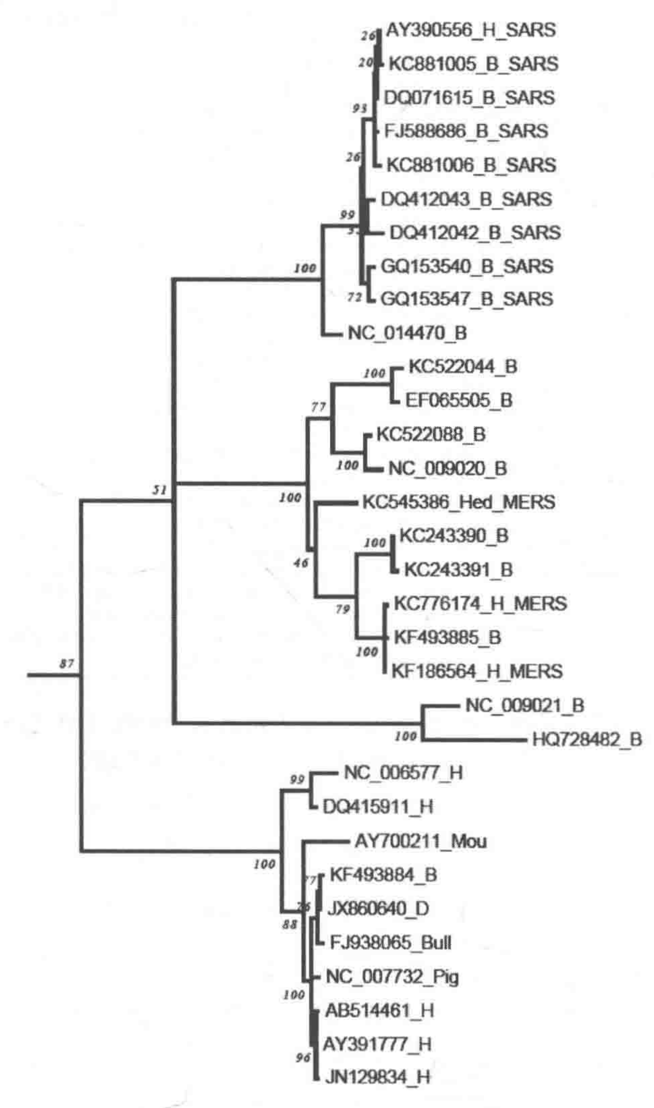


图 5-4 蝠-人 MERS-CoV 和蝠样 SARS-CoV(Bt-SL-CoV)/狸-人 SARS-CoV 以及部分其他 CoV 之间的系统发育树(用部分 RDRP 基因构建)

1. 研究共收集人 SARS-CoV 33 株,狸 SARS-CoV 与 Bt-SL-CoV 24 株,但由于所有被测的人-狸 SARS-CoV 核酸序列完全一致,故仅以众人共知之 AY390556(GZ02)人株为其他人-狸 SARS-CoV 的代表。2. H-人;B-蝙蝠,其中,XXXXX_B_SARS 即为 XXXXX_Bt-SL-CoV;Hed-刺猬

由此,我们有了新的重要发现:①代表几十株人-狸 SARS-CoV 之 AY390556(GZ02)和8 株 Bt-SL-CoV 内亲缘最近的 KC881005 株的支持度仅 26%,反映其亲缘分枝拓扑结构之可靠性差;而此2株(人或蝠)和余下7株 Bt-SL-CoV 内亲缘最近的 DQ071615 株的支持度更低,仅20%;②8 株 Bt-SL-CoV 之间亲缘关系虽密切,但支持度的悬殊惊人:20% ~99%,反映其亲缘分枝拓扑结构之可靠性非常不均一,即其亲缘关系之稳(确)定性差;③而3株人-蝠 MERS-CoV,不仅亲缘最近,而且支持度很高,达100%,和图5-3结果一致;④蝠-人 MERS-CoV 株和人-狸 SARS-CoV、Bt-SL-CoV 各自与 BatCoV-HKU4、BatCoV-HKU5 等的亲缘关系和图5-3结果基本一致。

由上可推断:人 MERS-CoV 和蝠 MERS-CoV 株之间亲缘或同源性最高,即两者最保守区(部分 RDRP 基因)序列完全一致;换言之,从流行病学研究之基础上分子进化可证实:蝠 MERS-CoV 为 MERS 病例的病原体,或携带 MERS-CoV 的蝠为 MERS 病例的传染源。相反,人-狸 SARS-CoV 和 Bt-SL-CoV 株之间虽有一定的亲缘关系,但其远不如人 MERS-CoV 和蝠 MERS-CoV 株之间那样密切,且多种 Bt-SL-CoV 株相互之间亲缘关系不确定性高;所以,从我们这些非常简单的分子进化结果,结合诸多流行病学和其他专业的证据,可再次支持以前许多国内外学者做出的如下判断:这些 Bt-SL-CoV 是人-狸 SARS-CoV 的共同祖先,而非直接祖先。

诚然,我们研究使用的 Memish 方法,仅用 RDRP 基因之部分构建发育树。虽然由于标本来源之局限,仅能应用此部分基因进行研究,但 Memish 确认,这部分基因为冠状病毒之最保守区,完全能代表所研究毒株相互间之亲缘关系;同时结合流行病学证据,判断携带 KSA-287 蝠株之蝠和受染 β-CoV 2c EMC/2012 人株之病例间存在的传播关系。可见,我们图5-3之研究结果的可靠性较好。应用传染病流行病学尤其是自然疫源性疾病理论指导,结合 MERS 上述地区和时间分布,进一步表明如下可能性:人 MERS-CoV 是自然进化所致,MERS 是一种自然疫源性疾病。此处"自然进化",顾名思义可指没有任何人为干预,病原体在自然界一定地理景观内生存、传播、进化并在该地动物界连续流行和世代循环中之"进化"。犹如,在 SARS 和人 H7N9 禽流感发生之前,人类历史上传入人群前的各种自然疫源性疾病病原体之"进化"。

相反,图5-4之研究结果在一定程度上,可支持本书多章以流行病学、临床学、分子病毒学和系统发育学(尤其是 SARS-CoV 在人群流行过程中出现的"逆向进化")诸多证据或证据链(详见第七章图7-5)所做出的宏观结论:SARS-CoV 是非自然进化产生,SARS 不可能是一种自然进化之自然疫源性疾病,但仍可属于"人兽共患病"!在流行病学分析中,也如临床医学等其他学科一样,经常应用"排除法"(可参见本书第四章有关部分)。此处"非自然进化"的过程,顾名思义可指"人为"的,即将野生动物(在此指蝠)携带的病毒[在此指 Bt-SL CoV Rp3 (DQ071615) 株或类似株],经诸如本书第四章已介绍的国际上公开发表之多种

方法,应用实验室基因改造结合与人亲缘关系最近或可替代人的动物群体内传代适应试验,使该病毒改制成能感染人并在人群中流行、人类或动物界前所未有的新品种病毒(在此指SARS-CoV)(详见第七章图7-5)。诚然,上述结论还需进一步的、大量的、多学科的、国际合作的现场和实验研究加以实证;为此,笔者早已郑重向有关国际组织建议组织2个专家委员会实施此事,以彻底弄清SARS-CoV来源和SARS是否像天花一样已被消灭,从而造福于人类,避免类似SARS流行悲剧再次发生(详见附件二)!

上述论证和前段描写、分析之流行过程三环节和分布特征的结果一致,即对SARS和MERS的比较研究,流行病学和分子进化均获相同结论。

从传染病流行病学,尤其是自然疫源性疾病理论和人类传染病流行史出发,结合逆向进化理论,稍加逻辑推理,不难获得如下推论:由于SARS-CoV是非自然进化产生,因此其不能在人群中生存和长期流行,只能离开新的、其不能适应的地球上最高等动物群——人类,返回祖先生态环境。其机制将在下节详细讨论。

第三节　SARS-CoV在自然界和人群中消失之原因

一、传染病消失的基本环节

本书第一章已阐述,传染病在人群中发生、发展及流行必须同时存在三个基本环节,即传染源、传播途径和易感人群。这三个基本环节均受到自然因素、社会因素的影响。传染病流行的三个基本环节及两个因素决定着传染病在人群中的发生、发展甚至消失。人类社会进步和发展总是伴随着同疾病斗争的历史,20世纪之前主要是同传染性疾病的斗争。鼠疫、霍乱、流感、天花等曾经多次肆虐全球造成人员大量的伤亡,人类在与上述传染病抗争的漫长岁月中积累经验、创新理论。尤其自20世纪初开始,随着基础医学、临床医学和预防医学的发展,特别在传染病病原学、免疫学、流行病学与临床治疗等方面的研究进展,以及抗生素和疫苗的使用,使人类在与传染病的斗争过程中逐渐由被动转为主动。人类通过对传染病的病原体研究,疾病流行病学分布特征的分析,逐渐了解并掌握了传染病流行的三环节理论,由此针对每种疾病三环节中薄弱之处,采取相应有效的干预措施,达到控制、减少甚至消除该传染病的目的。

针对三环节采取相应的措施,分别为管理和控制传染源、切断传播途径和保护易感人群。SARS的主要传染源是患者,因此对患者的隔离治疗,就是控制其流行的基本措施。传播途径主要为密切接触和空气飞沫,因此,随时洗手、避免和患者接触、戴口罩、注意通风排气等在防控期间发挥着重要的作用。由于SARS是新发传染病,故人群普遍易感。虽然,国

际上当时尚未研制成相应疫苗和有效预防药物，但我国很多中草药均有一定的抗病毒作用，尤其中医学者迅速组方，不仅用于治疗，而且可以预防；可见，对保护易感人群、防控 SARS 的蔓延，中华民族医药做出了特殊贡献。在中央的正确决策指引下，经全体医务卫生工作者和民众努力，实施针对 SARS 流行三环节的相应措施，大陆疫情于 2003 年 6 月即得到控制；除年底广州 4 例患者的小爆发和随后的实验室感染外，再无病例出现。当然，SARS 的整个流行过程在全球如此之短，除各国政府和人民的努力之外，SARS-CoV 特殊的进化和起源也是重要原因。从上述防控 SARS 的实例，结合前述其流行分布特征与 SARS-CoV 之演变，读者可能已对 SARS 从发生、流行及其蔓延扩展、中止和小爆发以及实验室感染直至发病终止、消失之全过程一目了然。在此应指出，我们提出“消失”之术语，而不用“消灭”，仅是因为将一种传染病定为“消灭”，需经有组织地实证和认定，犹如天花之消灭过程。这需取决于有关国际机构之努力，故徐德忠教授早于 2013 年就此致信他们，请求组织实证专家委员会，并采取行动(参见附件二)。

然而，SARS 的发生和消失非常特殊，和迄今除 2013 年出现的人 H7N9 禽流感之外的所有人类传染病相比，十分反常，堪称史无前例。在人类历史上，公开宣布消灭的传染病仅一种：天花。但为何 SARS 已达消灭的状态，其和天花消灭又有何不同？这将是下节讨论之重点。

二、天花消灭的简要过程和主要原因

天花是天花病毒(variola virus)引起的烈性传染病。人是天花病毒的唯一宿主、传染源和贮存宿主，天花病毒经空气飞沫和密切接触传播，因此其可在人群内迅速蔓延。人类感染天花病毒均表现为显性即发病，症状明显，易于诊断与识别，但病情严重，病死率 25% ~40%。

天花的出现，可追溯至 3000 多年前，此后多次引起全球范围的流行。我国古代，很早即发现“人痘”，易感者接种后可在一定程度上防止接触天花患者后发病；但接种者风险很高，因接种的是“人痘”，“人痘苗”本身即有很高的致病性。当“人痘苗”传至西欧时，在实践中又得到很大改进。1796 年 5 月，英国医生爱德华·詹纳(Edward Jenne)大胆尝试用接种牛痘的方法来预防天花，效果好，副作用和接种反应很小；“牛痘苗”即为天花疫苗。天花疫苗的发现及推广使用成为人类与天花斗争的转折点，但在当时的社会背景下一些国家的疫苗生产、运输(初期疫苗不耐热)及推广接种存在诸多困难。直到 20 世纪 50 年代，耐热疫苗的研制成功和大规模生产得以实现，使天花疫苗在全球人群中接种成为可能，随着接种率增加，发病率和死亡率急剧下降。

1958 年 WHO 决议号召全世界携手推广疫苗接种以消灭天花。但是 1959 年至 1966 年期间，消灭天花的进展远低于预期。自 1967 年开始，在总结以往经验教训之基础上，WHO 提出实施强化推广天花疫苗的同时，加强天花病例的监测和管理：新发病例一经发现便隔离治疗，对密切接触者接种疫苗和检疫，由此极大地加速了消灭天花的进程。1977 年 10 月 26 日索马里梅尔镇出现自然感染的病例，为世界上最后一例天花。1979 年 12 月世界卫生

组织证实了天花在全球范围内消灭,并于 1980 年 5 月 8 日在第 33 届世界卫生大会上正式向全球宣布。

天花的预防、控制直至消灭,是人类与传染病斗争史上的第一个里程碑式的胜利。天花虽然被消灭,但为研究之需要,WHO 决议建立了天花病毒咨询委员会,并授权前苏联(俄罗斯)国家病毒和生物技术研究中心、美国疾病预防与控制中心暂时保存全球的天花病毒。

三、SARS 消失的过程与原因及其和天花消灭、一些传染病流行过程之主要区别

1. SARS 流行、消失的过程与天花消灭过程之主要区别 人类与传染病的斗争并没有因为天花的消灭而结束,21 世纪初 SARS 在短时间内席卷全球,值得庆幸的是 21 世纪初医学技术及生物科学技术为人类从发现 SARS 病例到病原体确定仅短短几个月。SARS 自出现到消失也只有 1 年半,至今再未出现病例。人们不禁要问为什么消灭天花人类需要付出长达几个世纪的努力,而预防、控制甚至使 SARS 消失却不到 2 年。而 SARS 的预防控制过程中,人类真的是再次彻底战胜了这种传染病了吗?然而,事实却远没有如此简单。

首先,我们注意到天花的消灭,是基于天花病毒感染特性、十分有效之天花疫苗的广泛使用以及全球各国、各地区共同不懈努力下实现的。除此之外,天花病毒尚有其生物学和生态学的弱点:天花病毒传染源为患者,易感者为未受染的人群,并且感染后均为显性感染容易识别与诊断,患者康复后不再携带和排出病毒。天花病毒抗原性稳定很少变异,而且天花疫苗接种后的保护效果好,上述因素是人类最终消灭天花最主要的病毒学和流行病学原因。

相比之下,来势汹汹的 SARS 疫情为何在短短 1 年多时间内偃旗息鼓呢?究其原因不难发现,SARS 病原体的及时发现和 SARS 诊断技术的迅速建立促进了传染源的早期发现。加之,严格的患者管理制度、消毒为主的切断传播途径措施和保护易感人群为控制流行做出贡献。

然而上述各种努力尚不能给 SARS 消失一个合理的解释。而且,人们不免还担心“SARS 是否还会卷土重来?”,“若 SARS 再次来袭,我们如何应对?”这样的担心不无道理,因为在人类与传染病斗争的历史上,从未有传染病与 SARS 一样在短时间内“消失”的先例,这预示 SARS 的病原体及其起源很可能与其他人类传染病有本质的区别。

2. SARS 流行、消失的过程与人高致病性 H5N1 禽流感流行过程之主要区别 首例 SARS 发病,到超级传播者出现的 2003 年 1 月 31 日,仅短短 2 个半月;至 2003 年 7 月全球共发生 8098 例,病死率为 9.6%;且自 2004 年实验室感染后,再无新发病例。相反,人高致病性 H5N1 禽流感,2003 年至 2014 年 6 月,15 个国家报告患者 667 例,死亡 393 人(病死率 58.9%),而且很少发生人与人之间的传播,更为突出的是,H5N1 禽流感仍然不断在东亚和南亚多国流行,并向欧洲和非洲蔓延。

3. SARS 流行、消失的过程与主要人冠状病毒病流行过程之主要区别 上述已指出,

SARS-CoV 是跨越动物在人类传播的第 3 种冠状病毒,在之前为 HCoV-OC43,HCoV-229E,此后 2012 年 4 月出现 MERS-CoV。除 HCoV-OC43 与牛有关外,这 4 种人冠状病毒中其他 3 种均与蝙蝠有关。

正如前述,将 SARS-CoV 与 MERS-CoV 进行比较,可发现:①两者均可引起严重的呼吸系统疾病,但 MERS-CoV 患者更多伴随肾脏功能衰竭。②SARS-CoV 流行早期传染性强,在人群中传播快,波及全球 29 个国家和地区;而 MERS-CoV 主要限于中东地区,受染骆驼之接触者为高危人群,人传人的病例主要在家庭和医院。此外,关于 SARS 与 MERS 之间,SARS-CoV 与 MERS-CoV 之间,本章及有关章节已做过较详细和全面的比较,在此不再赘述。

4. SARS-CoV 在自然界和人群中消失之主要原因 在此,为前后呼应且节省篇幅,不妨简述徐德忠教授在我国传染病流行病学理论和逆向进化理论指导下,收集了国际上 SARS 和 SARS-CoV 及其有关传染病与其病原体的流行病学、分子病毒学和分子进化等多专业研究之大量证据,并加以历史性地比较性地全面系统地综合分析,创造性提出全新假说,扼要地回答了“SARS-CoV 在自然界和人群中消失之原因”:①SARS-CoV 是一个过客病毒(passenger virus)。②SARS-CoV 在 SARS 全球人群内流行期间存在“逆向进化”。③SARS-CoV 的“逆向进化”是导致 SARS-CoV 在自然界和人群中消失的直接原因。④人群流行期间,SARS-CoV 发生的“逆向进化”是其“非自然起源”的外在表现;换言之,SARS-CoV“非自然起源”是本质,而其发生的“逆向进化”仅是在人群流行期间以分子进化形式反映出的现象。这又可看作为在流行病学-分子进化领域,以“透过现象看本质”之哲学理念揭示事物真相的一实例(参见本书各章有关内容和第 7 章图 7-5)。

(王安辉　徐锐　徐德忠)

参考文献

[1] 谭毅,卓家同,刘巍,等. 广西野生动物 SARS 冠状病毒的感染状况及其意义[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2005,16(3):193-194.

[2] 徐德忠,孙慧敏,谭雅慧. 现在自然界和人群中已不存在非典病毒[J]. 医学争鸣,2013,4(1):22-26.

[3] Shi Z,Hu Z. A review of studies on animal reservoirs of the SARS coronavirus[J]. Virus Research,2008;133:74-87Drexler JF,Corman VM,Drosten C. Ecology,evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS[J]. Antiviral Res,2014,101:45-56.

[4] Gerlier D. Emerging zoonotic viruses:new lessons on receptor and entry mechanisms[J]. Curr Opin Virol,2011,1:27-43.

[5] Donnelly CA,Fisher MC,Fraser C,et al. Epidemiological and genetic analysis of severe acute respiratory

syndrome[J]. Lancet Infect Dis,2004,4:672-683.

[6] Zhong NS,Zheng BJ,Li YM,et al. Epidemiology and cause of severe acute respiratory syndrome (SARS) in Guangdong,People's Republic of China,in February,2003[J]. Lancet,2003,362:1353-1358.

[7] Hilgenfeld R,Peiris M. From SARS to MERS:10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses[J]. Antiviral Res,2013,100:286-295.

[8] Chan JFW,Li KSM,To KKW,et al. Is the discovery of the novel humanbetacoronavirus 2c EMC/2012 (HCoV-EMC) the beginning of another SARS-like pandemic[J]? J Infec,2012,65:477-489.

[9] Zaki AM,Boheemen S,Bestebroer TM,et al. Isolation of a Novel Coronavirusfrom a Man with Pneumonia in Saudi Arabia[J]. N Engl J Med,2012,367:1814-1820.

[10] Ge XY,Li JL,Yang XL,et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. Nature,2013,503:535-541.

[11] Reilley B,Herp MV,Sermand D,et al. SARS and Carlo Urbani[J]. N Engl J Med,2003,348:1951-1952.

[12] Kuiken T,Fouchier RAM,Schutten M,et al. Osterhaus Newly discovered coronavirus as the primary cause of severe acute respiratory syndrome[J]. Lancet,2003,362:263-270.

[13] Li W,Moorel MJ,Vasilieva N,et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus[J]. Nature,2003,426:450-454.

[14] Yi CW,Hon CC,Shi M,et al. Phylogenetic perspectives on the epidemiology and origins of SARS and SARS-likecoronaviruses[J]. Infect Genet Evol,2009,9:1185-1196.

[15] Li F. Receptor recognition and cross-species infections of SARS coronavirus[J]. Antiviral Res,2013,100:246-254.

[16] Bolles M,Donaldson E,Baric R. SARS-CoV and emergent coronaviruses:viral determinants of interspecies transmission[J]. Curr Opin Virol,2011,1:624-634.

[17] Xu D,Sun H,Su H,et al. SARS coronavirus without reservoir originated from an unnatural evolution,experienced the reverse evolution,and finally disappeared in the world[J]. Chin Med J (Engl),2014,127(13):2537-2542.

[18] Smith I,Wang LF. Bats and their virome:an important source of emerging viruses capable of infecting humans[J]. Curr Opin Virol,2013,3:84-91.

[19] WHO. 埃博拉病毒病,实况报道第 103 号,2014 年 9 月 (http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/zh/).

[20] WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) summary and literature update-as of 11 June 2014 (http://www.who.int/csr/disease/coronavirus infections/MERS-CoV_summary_update_20140611.pdf).

[21] Memish ZA,Mishra N,Olival KJ,et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus in bats,saudi arabia[J]. Emerg Infect Dis,2013,19(11):1819-1823.

[22] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (revised 26 September 2003). http://www.who.int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index.html.

[23] WHO Middle East respiratory syndrome coronavirus(MERS-CoV)-Saudi Arabia http://www.who.int/csr/don/03-november-2014-mers/en/.

第六章　非典病毒非自然起源的流行特性和临床特性之证据

从2002年底SARS流行开始至今，尽管已经过去10多年，但整个医学界对SARS-CoV的起源仍未知晓。这在高科技如此发展的今天难以想象，在近代人类传染病流行史上实属罕见。诚然，国内外无数学者对其基因结构及其变异与跨宿主进化进行了全面深入的研究，但是仍然没有发现SARS-CoV的真正起源。究其原因，主要在于这些研究者多数来自实验医学领域，没有从宏观和微观结合上，没有从同一疾病发展前后历史比较上和多病种相互比较上，以及未在创新思路上探讨SARS-CoV起源的实质。

最近，国内学者徐德忠教授及其团队通过多年苦心研究后认为，自然界根本不存在SARS-CoV的直接祖先和贮存宿主，其是由Bt-SLCoV经“非自然（如基因改造结合动物传代适应试验）进化（unnatural evolution，UE）”方式产生。该病毒在短暂流行后不久即在自然界和人群中消失，故他们将SARS-CoV称为“过客病毒（passenger virus）”。这实际上反映出人类已进入经基因改造技术和群体动物传代试验相结合等方式、将某些低级野生动物病毒人工制成“新品种人类病毒（即非原有病原体之基因改造）”，并引起一国或多国乃至全球性流行的新时代，故应引起各国科学家和公众的足够重视。因此，本章从疾病的分布和临床特征是否反常的角度出发，为进一步详细阐明SARS-CoV的非自然起源提供证据。

鉴别传染病的流行病学分布是否符合该病的自然史，是区分传染病的自然流行或非自然流行，也即区分是生物武器抑或自然界病原体致人或动物群体流行之主要学术策略。我军已用和仍将用此基本原则对待敌方的生物战（以往谓“细菌战”）。正如本书第一章已论及，因为传染病的流行特征（分布）为病原体及其进化、传染源即携带并能排出该病原体且使易感者受染之人或动物、传播途径、易感人群以及自然和社会环境因素等诸方面相互作用的结果，故若病原体起源不同，传播途径或释放病原体方式不同，必然致传染病的流行特征不同。因此不言而喻，从此理论出发，若该新发传染病的流行特征和同类传染病有明显差异甚至反常，即不能排除其为非自然流行，其病原体为非自然起源；若其和有史以来人类传染病均反常，并结合其他学科的证据或已形成证据链，则足以判断该病原体为非自然起源！

第一节　非典流行类型和规律之变化与反常

一、非典流行概况

2002 年 11 月 16 日我国广东省佛山出现首例 SARS 患者，次年 2 月广东省发病进入高峰，3 月疫情蔓延至山西、北京、河北、内蒙古和天津等华北地区，同时其他国家和地区陆续有病例和流行报告，从而造成世界范围内的大流行。2003 年 3 月 12 日 WHO 发出首次全球性 SARS 警报。截至 2003 年 7 月 31 日，全球 29 个国家或地区报告确诊病例 8098 人，死亡 774 人（9.6%）。其中中国大陆 24 个省、市、区报告 5327 例，死亡 349 例，病死率为 6.6%（表 6-1）。当疫情在 2003 年 8 月份得到全面控制后，下半年又发生了实验室感染事件：2003 年 9 月 9 日新加坡某病毒学实验室一名男性工作人员感染 SARS；12 月 17 日我国台湾“国防医学院”预防医学研究所的一名 44 岁男性研究员感染。次年 4 月，我国大陆发生一起实验室感染，安徽和北京两地共确诊患者 9 例，死亡 1 例。两例指示病例均在开展 SARS-CoV 科研的同一实验室工作。

广东省自 2003 年 7 月 SARS 疫情得到有效控制后，2003 年 12 月底再次出现新发病例，至 2004 年 2 月 2 日，共报告了 4 例，分布在广州市 4 个区，男性 3 人，女性 1 人，患者预后好，均痊愈出院，且无续发病例。

此后，除上述实验室感染外，全球再无 SARS 病例和动物感染发生。

二、非典主要流行特征

1. SARS 流行过程三环节　2002 年 11 月起至 2003 年 8 月期间流行过程中，SARS 患者是主要传染源。SARS-CoV 感染至发病的潜伏期通常为 2～12 天，平均 5 天。患者发病全程均有传染性，病后前 5 天内传染性弱，7～12 天时传染性最强；有人报告，患者在潜伏期末可能即有传染性；临床痊愈后有否传染性，尚未见明确的文献根据；但实验检测结果表明，患者病后 21 天，在其多种分泌物或排泄物内能检出 SARS-CoV 或其标志物。

我国大陆 SARS 流行极早期，患者传播力不很强；但此后不同，尤其在 2003 年 1 月底开始出现许多超级传播者（super-spreader），后者 1 人可传数人、十数人甚至更多。SARS 超级传播者在流行国家的许多城市均存在，如我国广州、香港、北京，新加坡，加拿大多伦多等。即使至 2004 年 4～5 月的我国实验感染中，发病的第 2 例（护士）也为超级传播者，传播 5 例。这类超级传播者，在传染病流行史上实属少见。

有研究显示 SARS-CoV 感染发病后，呼吸道、血液、尿液及粪便中 SARS-CoV 含量变化

存在差异,以呼吸道、粪便中 SARS-CoV 出现时间长且病毒含量高(图 6-1)。

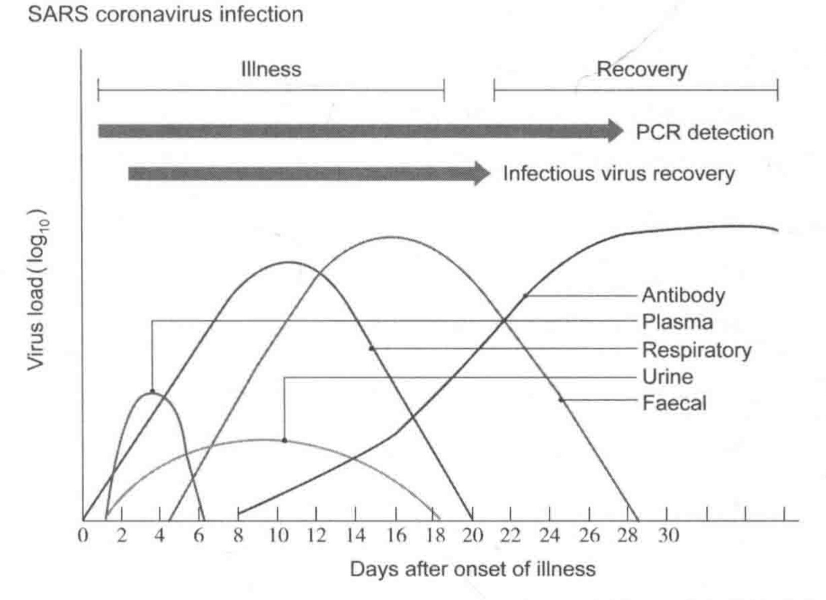


图 6-1 患者体内各类体液或排泄物 SARS-CoV 载量与病程关系的示意图

[引自:Thompson C,Zambon M Influenza,respiratory syncytial virus and SARS. MEDICINE 2009,37(12):679-685.]

飞沫传播是 SARS 的主要传播途径,同时存在密切接触传播,且在一定条件下可发生空气(气溶胶)传播。因此,SARS-CoV 传播特点与冠状病毒类似:同时具呼吸道和消化道途径。因此,在环境密闭、人员集中区域传播快;家庭、医院爆发更是十分常见。

2. SARS 流行的人群特征 为医务人员高发。由于人类对 SARS-CoV 均无免疫力,而早期对其传播途径认识不足,缺乏有效保护措施,因而参加抢救的医务人员与患者近距离接触,受染甚多。

依据 2003 年 3 月至 6 月 24 日期间北京市 2521 例 SARS 临床诊断病例资料分析显示,北京市发病率(罹患率)为 18.57/10 万,死亡 192 例,死亡率和病死率分别为 1.41/10 万和 7.6%。男女发病比为 1∶0.97,20~29 岁年龄组发病率最高(30.85/10 万),0~14 岁年龄组最低(2.54/10 万),患者以青壮年为主占 72.3%;SARS 病例职业分布以医务人员最多,构成比为 17.3%。

由此,SARS 的主要流行病学特点:①SARS 病例大多数集中在冬春季发生。SARS 爆发和流行期间的温度为 17~28℃。②病例平均年龄为 38~39 岁,青壮年多见。③SARS-CoV 传染性强,出现较多“超级传播者”。④易在医院、社区、学校、家庭等处爆发。⑤平均病死率 6%~16%;病死率随年龄增加,伴有基础疾病者病死率高,死亡病例中 64% 年龄超过 50 岁。

然而,能在全球范围传播的呼吸道传染病互相比较发现,SARS 的人群分布特征与 1918 年 H1N1 流感(又称“西班牙”流感)大流行、2009 年甲型 H1N1 流感等大流行的人群分布特点

有着显著不同:① 2002 年 11 月至 2003 年 7 月:SARS-CoV 传染性特别强;2003 年 12 月至 2004 年 1 月,即广州爆发期间:则明显减弱。②SARS 病例主要集中在中国大陆、香港、台湾以及新加坡、越南等华人或与华人血缘接近的国家或地区。一名 SARS-CoV 感染的华裔妇女从香港返回加拿大多伦多后发病死亡,当地 SARS 疫情波及的社区感染者也以华人为主,在加拿大 15 例 SARS 死亡者中只有 2 位不是华裔。③SARS 流行期间无论香港或广州,其疫源地大多集中在某些社区或医院。④2002 年 11 月至 2003 年 7 月发病者病死率高,而广州爆发无一例死亡。⑤更为特殊的是流行之后,除实验室感染外,长达 10 年多再无病例发生。可见,SARS 上述这些特征绝非自然流行的传染病所有。

表 6-1　全球 SARS 发病的地区分布(2002.11.16—2003.7.31,WHO)

	国家/地区	病例数	死亡数	病死率(%)
1	澳大利亚	6	0	0
2	加拿大	251	43	17
3	中国大陆	5327	349	7
4	中国香港	1755	299	17
5	中国澳门	1	0	0
6	中国台湾	346	37	11
7	法国	7	1	14
8	德国	9	0	0
9	印度	3	0	0
10	印度尼西亚	2	0	0
11	意大利	4	0	0
12	科威特	1	0	0
13	马来西亚	5	2	40
14	蒙古	9	0	0
15	新西兰	1	0	0
16	菲律宾	14	2	14
17	爱尔兰	1	0	0
18	韩国	3	0	0
19	罗马尼亚	1	0	0
20	俄罗斯	1	0	0
21	新加坡	238	33	14
22	南非	1	1	100
23	西班牙	1	0	0
24	瑞典	5	0	0
25	瑞士	1	0	0
26	泰国	9	2	22
27	英国	4	0	0
28	美国	29	0	0
29	越南	63	5	8
	合计	8098	774	9.6

[引自:WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (revised 26 September 2003). http://www.who.int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index.html.]

三、非典的流行类型

1. 根据 SARS 的传播来源以及本地传播情况分类 由于 SARS 流行不同于以往的新发传染病,其传染源传染性强、经飞沫传播,加之现代化交通工具十分发达,因此蔓延迅速。按此,SARS 流行类型可分四类。

(1)本地感染并引起传播:即首发病例在当地发病后并引起该地区的传播流行。如我国的广东省和广西壮族自治区。

(2)首发病例为输入病例并引起当地传播:即首发病例在外地感染后回到原居住地或异地住院时引起当地传播和流行。我国有 11 个省(区、市)属此种类型,如北京、内蒙古、山西、天津、河北等。加拿大、美国、越南、新加坡等国属于这种类型。

(3)出现输入性病例但未引起当地传播或流行:如我国上海、山东、辽宁、湖南、宁夏等省(区、市)。国外如巴西、法国、德国、瑞典、澳大利亚等。

(4)未发生病例:我国海南、云南、贵州、青海、西藏等省(区)未见病例报告。

2. 根据 SARS 的爆发点或地域分类 同理,因为 SARS-CoV 的特殊起源,流行有别于以往:SARS-CoV 以飞沫和密切接触传播为主,SARS 的潜伏期又短,故决定了流行中以疫点爆发为主。

(1)医院爆发:世界各国 SARS 流行规律显示,在 SARS 传播的早期,由于缺乏对这种新发传染病的防控经验,在患者救治过程中,医务人员成为感染的高发人群。如各国或地区流行初期,常先由指示病例或疑似患者入院后开始引起医护人员和同室患者爆发,然后才经其亲属传播到社区或其他人群。香港最初发生的 138 例病例中,医护人员和实习医学生共占发病人数的 61.6%。加拿大多伦多出现 144 例病例时,医护人员发病占 50.7%。

故医院爆发是 SARS 流行尤其是发生或输入病例后之早期的重要模式。

(2)家庭爆发:SARS 流行早期,在医院爆发之同时,也造成家庭爆发,数个成员同时感染发病甚至死亡,出现超级传播者。如北京首批输入性病例中,有一位女性在广东受染后引起山西家庭爆发后,又至京住院,引起该医院爆发。

在疫情严重的我国大陆和香港,新加坡,加拿大等国家和地区,这种类型多见。

(3)社区爆发:未及时就医或未隔离的疑似或早期患者,在社区、学校、单位进行各种活动时,因病毒毒力高、外环境生存力强,可以密切接触和飞沫甚至空气传播给邻居和邻楼易感者而致爆发。社区传播的范围与患者的日常活动范围密切相关。除电梯外,也可通过污染的厕所及其下水设施引起传播。

最经典的案例,如香港的淘大花园爆发。据香港卫生署调查,这起疫情爆发的原因是指

示病例可能通过 E 座居民楼的污水排放系统、人与人的密切接触及大厦设施(如电梯及楼梯),甚至风向流动之空气传播,导致大厦内的一批居民感染病毒,然后再传播至同座或邻座的其他居民。因而,淘大花园爆发损失惨重,引起诸多国家和公众的关注。

此类社区爆发,在全球多地发生,故人们至今铭记不忘!

四、广东省流行的地区分布十分异常

我国广东 2002 年 11 月 16 日首例至 2003 年 1 月 31 日两个半月中发病 194 例,分散在 6 个市区,传播慢,症状较轻,病死率低;而其后两个月共发病 1037 例,主要集中在广州(图 6-2),且为医院-家庭爆发模式,病情危重,出现较多超级传播者。SARS 流行期间,广东省 21 个地级市中 15 个市有病例报告。病例主要集中在珠江三角洲的佛山、广州、深圳、中山、江门等5 个市,占总病例数的 96.03%,其中又以广州市报告病例最多,占总病例数的 86.04%。

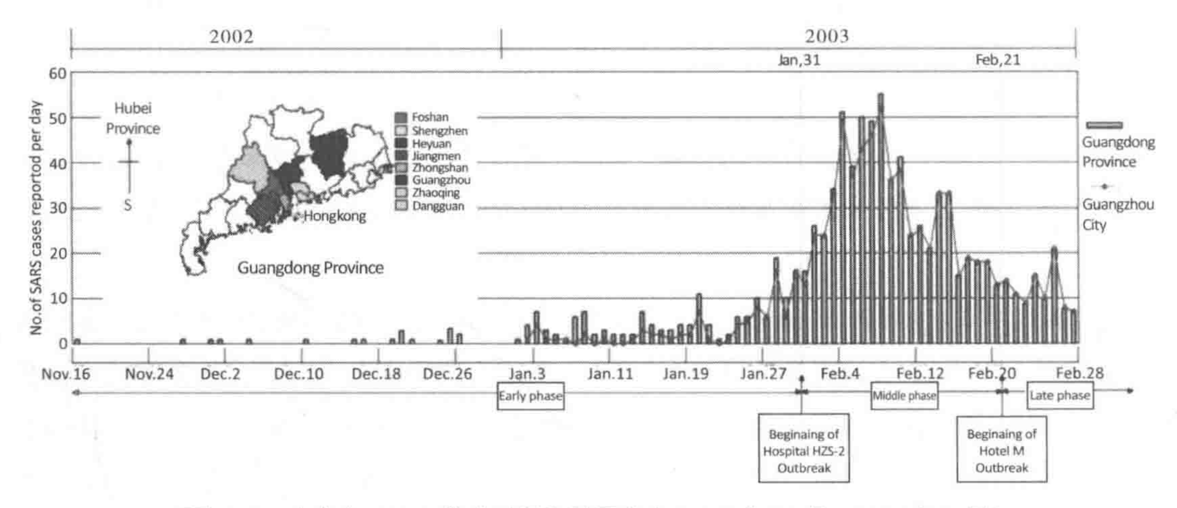


图 6-2　广东省 SARS 发病时间和地区分布(2002 年 11 月—2003 年 2 月)

(引自:Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Science,2004,303:1666-1669.)

更耐人寻味的是,SARS 在广东省流行早中期的地区分布特点,Science 杂志对此作了专门叙述:自第 1 例至 2003 年 3 月 10 日东莞出现的指示病例期间(即我国内地 3 个流行时期中早期至晚期之初),此期间病例均发生在广州西面几个城市和南面的深圳市,其余地区均无病例(图 6-2);对于河源的发病,论文特别加以说明:其指示病例在深圳受染,当时河源无患者。此种畸形地区分布发人深思:因为广州东面和北面的城市在社会与自然环境等方面与西面和南面无明显差别。

对此,该作者在论文中做如下解释:由于 20 世纪 70 年代初,珠江流域经济发展,居民饮食习惯改变,开始引进外来动物食品。这似有一定道理,但却不能说明以下问题:①吃果子狸等习惯已数十年,但为何 2002 年才发生流行;②此习惯在广州周边均如此,为何流行早、中期仅局限于广州的西面和南面;③能分离出 SARS-CoV 的果子狸仅在广州和深圳两市的

野生动物市场，而周边农村饲养场和其他省区均无。

所以，我们认为：此种奇怪分布（外在表现）反映的深层次原因（内部本质），很可能是果子狸的受染和（或）受染的果子狸输入，即传染来源引入动物界和（或）人群是非自然的，换言之是人为的。流行病学分析提出的这一观点与本书多处涉及的 SARS-CoV 系统发育中出现之“逆向进化”过程相吻合。

五、我国非典实验室感染流行分布之奇特表现

在流行病学上，分析流行或爆发原因或机制时很重视佐证，其作用犹如司法案件证据链中的重要甚至关键环节。2004 年 3 月 25 日至 4 月末，我国突然发生一起实验室感染，在北京和安徽共确诊 9 例 SARS 患者，死亡 1 例。爆发中有续发和超级传播者。后者为此次实验室感染的第二例，是护理首例患者的护士李某传播 5 例（图 6-3）。

可见，这起实验室感染中 SARS-CoV 毒性强、传播力大，故其流行强度大，流行病学特征与同年 1 月广州爆发明显有别，却与 2002—2003 年的流行非常一致。从 SARS 流行过程看，这起实验室感染既非 2002—2003 年 SARS 流行之延续，也与之前 3 个月发生的广州 SARS 爆发无关，应是独立的。

然而，此实验室感染的流行分布之奇特表现，并非偶然；正暴露了 SARS-CoV 在流行过程中经历的曲折进化过程：由于其非自然起源，来势凶猛，但因不适应于人群，仅能以“逆向进化”应对，毒力和传播力迅即下降，故 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发时已无续发病例。然而，此种“逆向进化”唯发生在人群中流行的 SARS-CoV 株；而贮存于实验室之 2003 年上半年流行株仍维持着原有的毒力和传播力，故实验室感染虽发生于广州爆发之后的 2004 年 3～4 月，但仍呈现 2002—2003 年流行之猛烈状态。由此，有力地佐证或反证了 SARS-CoV 之“逆向进化”和非自然起源。

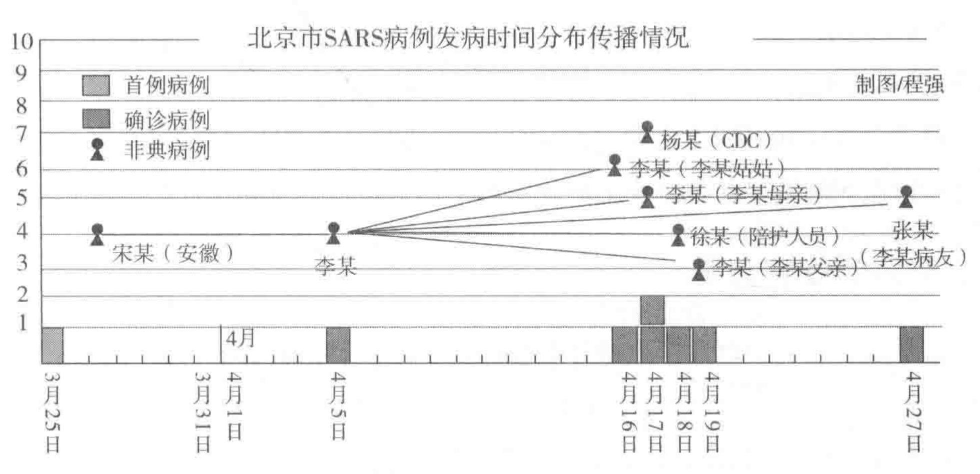


图 6-3 北京 SARS 实验室感染病例时间分布和传播关系

［引自：北京发布 4 月非典疫情流行控制情况分析报告（图）．新京报（2014 年 7 月 1 日）．http://news.sina.com.cn/c/2004-07-01/06242954718s.shtml.，图题由笔者所加］

第二节　非典病例的临床类型之变化和反常

一、非典的主要临床表现

SARS 患者首发症状是非特异性的。

发热为主要症状，体温一般高于 38℃，热型可表现为弛张热、不规则热和稽留热等多种形式。笔者通过对“我国大陆 SARS 病例库”的临床表现分析显示，最常见的症状为：发热(96.5%)，其中 27.1%伴有畏寒，6.9%伴有战栗，病例首诊体温为(38.1±0.9)℃。其次为咳嗽(55.5%)、乏力(35.3%)、咳痰(29.0%)，肌肉关节酸痛(25.9%)、头痛(22.4%)。再次为气短(16.5%)、胸闷(12.7%)、腹泻(6.3%)、恶心呕吐(4.9%)和胸痛(4.9%)等。部分有流鼻涕(3.6%)、咽痛(3.2%)、大汗(2.6%)、呕血(2.6%)、心慌心悸(2.4%)、眼痛(1.6%)和打喷嚏(0.9%)等。在入院后 2 ~3 周，主要症状大多可减轻或达正常(引文未列)。

Donnelly 等报告香港 1425 例 SARS 患者的临床症状为发热(94.0%)、流感样症状(72.3%)、畏寒/战栗(65.4%)、乏力和厌食等。Booth 等分析多伦多 144 例 SARS 患者的临床表现，发现 85% 的患者体温升高，干咳、肌肉痛和呼吸困难也较多见。

上述三地“发热”比例有些差异，究其原因，可能多伦多患者病情较轻；也可能其对轻型患者之检测能力强；当然，也不能除外其样本量较前两研究小得多之故。

SARS 患者中，重症患者为 30% 左右，常有呼吸困难、低氧血症或多器官功能障碍等症状，尤其呼吸窘迫综合征，常为死亡的主要原因；老人的重症比例较高，可能因其常伴有程度不等的高血压、糖尿病、心脑血管、慢性肺疾患等基础疾病，免疫力低下等。

由于患者主要以胸部病变为主，大多数出现发热时已现胸片异常，因此影像学特征是患者诊断及病情监测的重要手段。我国内地病例早期影像学异常的发生率高达 90% 左右。

二、非典的临床分型

中华医学会和中华中医药学会制订的“传染性非典型肺炎(SARS)诊疗方案” 将病程分为早期(1 ~7 天)、进展期(8 ~14 天)和恢复期(15 ~28 天)。我国卫生部《传染性非典型肺炎临床诊断标准》按病情轻重，分为普通型和重症型。美国 CDC 诊断标准则分为隐匿型或轻型、普通型和重症型。

三、非典2003年年底至2004年初广州爆发临床类型之反常

2003年6~7月SARS的流行在各国戛然而止,但2003年年底至次年初又在广州爆发。这次发病人数仅4例,男3例,女1例,平均年龄31.75岁(表6-2)。首发症状均为头痛、发热等,其中发热、咳嗽、乏力、纳差4例,咳痰、畏寒3例,头痛、咽痛、肌肉酸痛、活动后气促各2例,呼吸音减弱3例。4例患者间相互无接触史,呈散发状态。可见,和上述(2002年11月至2003年7月)非典之典型临床表现相比较,此4例极其反常:病情轻,无并发症,肝功能、心肌酶、白细胞、淋巴细胞及T细胞等实验室检测指标较好,均痊愈出院,发病到出院仅22天左右,出院后预后好,且257名接触者(其中密切接触者113人)无一发病。

无疑,其原因已如上所述,造成此次爆发的SARS-CoV已经返祖性变异,毒力低,无续发传播能力,患者体内的病毒迅速被清除。由此读者可见,和流行病学上流行分布特征与三个环节之间的"现象与本质"关系一样,临床类型、病情轻重的特征与病原体变异、毒力高低也同样呈现"现象与本质"关系:广州爆发临床类型改变、症状轻、预后好的"现象",反映了此时的SARS-CoV已经"逆向进化"之"本质"! 当然,如前章指出的,进一步分析可揭示SARS-CoV在人群流行期间出现的"逆向进化"又是其"非自然起源"之反映! 从而在临床学领域方面,为SARS-CoV存在"逆向进化"且非自然起源之论断提供了有力证据。

表6-2 2003年底至2004年初广州爆发病例一般特征

编号	姓名	性别	年龄(岁)	职业	住址	流行病学史			
						同类患者接触史	野生动物接触史	外出史	医院就诊史
1	罗某	男	32	独立制片人	广州番禺区	无	无	无	无
2	张某	女	20	A餐厅服务员	广州越秀区	无	有	无	无
3#	杨某	男	35	发廊个体户	广州东山区	无	*	无	无
4	刘某	男	40	医院院长	广州海珠区	*	无	无	*

注:#代表病例3、4分别在发病前7、8天曾到A餐厅(经营果子狸)及其隔壁B餐厅就餐;
*代表情况不明

在此,我们就已发表文献的观点做深入讨论,以使公众对SARS-CoV进化、起源及其和SARS流行病学与临床学表现之关系有全面的认识。有学者指出,这次广州爆发病例分离出的SARS-CoV,除了系统发生树和2002—2003年流行的有一定区别外,其ORF 1a基因nt.6295突变,导致ORF 1a nsp3的CDS(coding sequence),即SUD(SARS-CoV unique domain)出现了一个终止密码子,而SUD可能参与调节病毒复制或抵抗受感染宿主的免疫反应。可见,此变异与病情轻、无续发有关。由此,作者推断这次爆发是一次独立的(进化)事件。但

我们进一步分析认为,诚然爆发病情轻、无续发与 ORF 1a 基因 nt.6295 突变有关,而其并非孤立事件;却是 SARS-CoV 进入人群后发生的一系列"逆向进化"过程之延续,故尚不能确定其为一次独立的进化事件,甚至很可能是全球 SARS 流行的收尾,即 SARS-CoV 消失于人群之前的最终表演。故此,我们从临床和分子病毒学、分子进化之结合点上,即宏观与微观结合点上证实 SARS-CoV 经历了一系列"逆向进化"过程。

四、我国非典实验室感染临床类型的"正常"和反常

如上述,发生在我国的 SARS 实验室感染,共确诊 9 例,死亡 1 例。指示病例宋某系在读研究生,3 月 25 日患者感到全身酸痛,发热,身体不适,先在北京某医院就诊,4 月 2 日与陪护她的母亲返回安徽某院继续治疗。其母亲 4 月 8 日因发热伴干咳入院,在同一病房治疗,但于 4 月 19 日病故。宋某在京住院期间,感染护理她的李某,后者 4 月 5 日开始寒战、发热、咳嗽等,7 日住院。李某密切接触者中有 5 名确诊为 SARS 病例,其中 3 名为直系亲属,2 名为同病室患者或陪护者;显然,李某为超级传播者。北京 7 名患者中,有两条传播链,第一条链以宋某为首发病例,此后在京出现 6 例续发;第二条链仅 1 例,即与宋某同一实验室的杨某发病,无续发,可能因其发病晚、诊断及时以及当时防控措施到位等有关(图 6-3)。

显而易见,这起实验室感染病情危重,病死率(1/9)高,传播性强,与 2002—2003 年 SARS 的临床表现完全一致;也符合 SARS 普遍的临床特征。故从表面视之,非常"正常",无丝毫异常。然而,宇宙万物发展均是曲折的、复杂的。若将"这起实验室感染" 之临床表现,置于全球 SARS 整个流行过程中分析,将其和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月年流行期间病例的临床表现、2003 年年底至 2004 年年初广州爆发的临床表现进行全面深入比较,即不难发现其十分"异常"或反常:其和 3 个月前之广州爆发明显有别,却和一年前流行中病例一致!由此,暴露了事物的本质:导致这起实验室感染的 SARS-CoV 未经历人群中"逆向进化"!

由此读者可见,和流行病学上流行分布特征与三个环节之间的"现象与本质"关系一样,临床类型、病情轻重的特征与病原体变异、毒力高低也同样呈现"现象与本质"关系:广州爆发临床类型改变、症状轻、预后好的"现象",反映了此时的 SARS-CoV 已经"逆向进化"之"本质";而在其后 3 个月的非典实验室感染病例临床类型和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行时一致,病情重、预后差、病死率高的"现象",反映了实验室感染的 SARS-CoV 来自 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行时之标本、未经"逆向进化"之"本质"! 所以,这从正反两方面佐证了临床表现和 SARS-CoV 逆向进化之间的相关关系。

当然,如前章指出的,进一步分析可揭示 SARS-CoV 在人群流行期间出现的"逆向进化"又是其"非自然起源"之反映! 从而在临床学领域方面,为 SARS-CoV 存在"逆向进化"且非自然起源之论断提供了有力证据。

至此,前章和本章从流行病学、临床学、病毒学与系统发育学等诸多方面及其互相印证,

反复阐明 SARS 之反常表现，反复阐明 SARS-CoV 在人群中存在“逆向进化”！一言蔽之，多学科的研究结果组成了一条刑侦学上谓之“证据链”，全方位地论证了 SARS-CoV 为非自然起源！

（王波　王安辉　徐德忠）

参考文献

[1] 徐德忠，孙慧敏，谭雅慧. 现在自然界和人群中已不存在非典病毒[J]. 医学争鸣，2013，4(1)：22-26.

[2]徐德忠，张磊，孙慧敏，等. SARS-CoV 非自然起源[J]. 医学争鸣，2013，4(4)：6-9.

[3] Kan B，Wang M，Jing H，et al. Molecular evolution analysis and geographic investigation of severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in palm civets at an animal market and on farms[J]. J Virol，2005，79(18)：11892-11900.

[4] Martina BE，Haagmans BL，Kuiken T，et al. Virology：SARS virus infection of cats and ferrets[J]. Nature，2003，425(12)：915.

[5] Hon CC，Lam TY，Shi ZL，et al. Evidence of the recombinant origin of a bat severe acute respiratory syndrome (SARS)-like coronavirus and its implications on the direct ancestor of SARS coronavirus[J]. Virol，2008，82(4)：1819-1826.

[6] Song H，Tu C，Zhang G，et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human[J]. Proc Natl Acad Sci USA，2005，102(7)：2430-2435.

[7] Guan Y，Zheng BJ，He YQ，et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China[J]. Science，2003，302：276-278.

[8] Zhong NS，Zheng BJ，Li YM，et al. Epidemiology and cause of Severe acute respiratory syndrome(SARS) in Guangdong，People's Republic of China，in February，2003[J]. Lancet，2003，362：1353-1358.

[9] Normile D and Enserink M. SARS in China：Tracking the roots of a killer[J]. Science，2003，301：279-299.

[10] Breiman RF，Evans MR，Preiser W，et al. Role of China in the quest to define and control severe acute respiratory syndrome[J]. Emerg Infect Dis，2003，9：1037-1041.

[11] Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China[J]. Science，2004，303：1666-1669.

[12] Booth CM，Matukas LM，Tomlinson GA，et al. Clinical features and short-term outcome of 144 patients with SARS in the greater Toronto area[J]. JAMA，2003，289(21)：2801-2809.

[13] Xu D，Sun H，Su H，et al. SARS coronavirus without reservoir originated from an unnatural evolution，experienced the reverse evolution，and finally disappeared in the world[J]. Chin Med J (Engl)，2014，127 (13)：2537-2542.

[14] 王撷秀，冯洪友，刘东，等. 天津市传染性非典型肺炎流行特点及主要控制措施效果评价[J]. 中华

流行病学杂志,2003,24(7):565-569.

[15] 李忠,王显军,王玫,等.不同人群血清 SARS 病毒抗体及Ⅳ型胶原检测结果分析[J].山东医药,2003,43(22):5.

[16] Zeng F, Chow KYC, Leung FC. Estimated timing of the last common ancestor of the SARS coronavirus[J]. N Engl J Med,2003,349:2469-2470.

[17] Li W,Shi Z,Yu M,et al. Bats Are Natural Reservoirs of SARS Like coronaviruses[J]. Science,2005,101:29-32.

[18] Cyranoski D,Abbott A. Virus detectives seek source of SARS in China's wild animals[J]. Nature,2003,423:467.

[19] Knudsen TB,Kledal TN,Andersen O. et al. Severe Acute Respiratory Syndrome a New Coronavirus from the Chinese Dragon's Lair[J]. Scand J Immunol,2003,58(3):277-284.

[20] He J F,Peng GW,M in J,et al. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic inChina[J]. Science,2004,303:1666-1669.

[21] 张朝武,姚玉红,王国庆.从 SARS-CoV 实验室感染看生物安全的重要性[J].现代预防医学,2004,31(5):656-657.

[22] 罗会明,黄吉城,周端华,等.广东省 2003—2004 年 SARS 的流行与控制[J].中国人兽共患病学报,2006,22(4):326-329.

[23] 邓子德.传染性非典型肺炎的流行病学特点[J].中国社区医师,2003,18(10):10-12.

[24] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003(revised 26 September 2003). http://www.who.int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index.html

第七章 非典病毒的逆向进化及其非自然起源

第一节 冠状病毒和SARS-CoV的基因组特征及其相互关系

一、冠状病毒基因组结构特征和血清学分组

1937年首次从禽类体内分离出一种新的病毒，其外膜均有突起，在电镜下呈日冕状或皇冠，故命名冠状病毒(Coronavirus，CoV)。冠状病毒是一类球形、有包膜的单正链RNA病毒，基因组全长约30 kb，是已知RNA病毒中最大的；有感染性，主要引起人和动物的呼吸道和肠道疾病。宿主范围严格，细胞培养条件要求高，人冠状病毒的适宜培养温度为33~35℃。传染性支气管炎病毒、猫冠状病毒和猪传染性胃肠炎病毒是重要的牲畜病原体。

(一)冠状病毒的结构

冠状病毒主要由S、M、E、N四种蛋白组成，有些(第Ⅱ血清组)CoV尚有血凝素-乙酰酯酶(HE)糖蛋白(hemagglutinin-acetylesterase glycoprotein)(图7-1)，而HE糖蛋白可结合细胞之糖基化部分，因此对冠状病毒的传播有其特殊意义。S蛋白是感染细胞的关键蛋白，是毒力的主要部分，决定病毒感染的种属特异性和组织亲嗜性。M蛋白是病毒中最大的跨膜蛋白，和病毒的包膜形成与出芽有关。蛋白E是相对较小的跨膜蛋白，它仅在病毒包膜表面少量表达，但影响病毒形态的形成，E蛋白和M蛋白共同表达可产生病毒样颗粒，M蛋白独自表达则不能；而E蛋白独自表达即可自身合并成小泡并释放，因此E蛋白被认为与病毒颗粒的形成有关。N蛋白是核蛋白，与M蛋白共同构成病毒的核心。

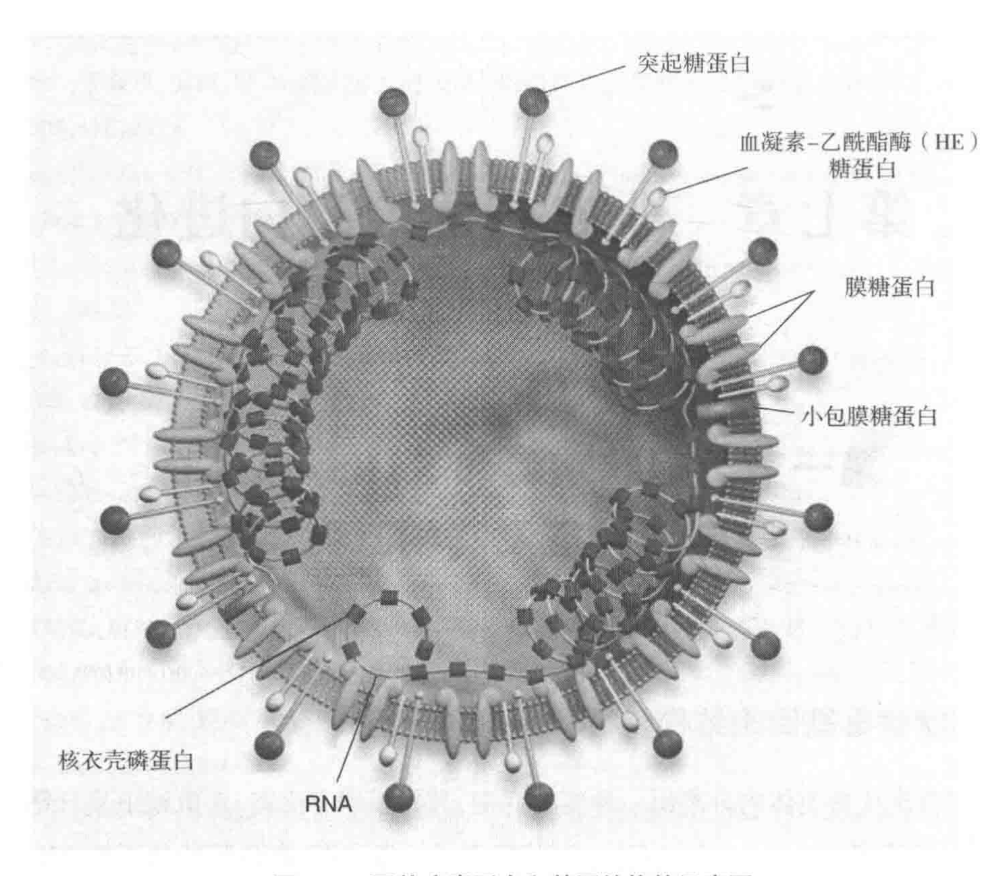


图 7-1　冠状病毒形态和基因结构的示意图

Spike(S) glycoprotein:突起糖蛋白;hemagglutinin-acetylesterase(HE)-glycoprotein:血凝素-乙酰酯酶(HE)糖蛋白;Membrane(M) glycoprotein:膜糖蛋白;Small envelope(E) glycoprotein:小包膜糖蛋白;Nucleocapsid(N) phosphoprotein:核衣壳磷蛋白

[引自:Holmes KV. SARS-associated Corona Virus. N Engl J Med,2003,348(20):1948-1951]

冠状病毒的基因组不分段。基因组结构的组成为:5'帽状结构-复制酶(rep)(基因)-刺突糖蛋白(S)-包膜蛋白(E)-基质膜糖蛋白(M)-核衣壳蛋白(N)-poly A 尾 3'。

rep 基因约占基因组 2/3,含 2 个开放阅读框架:ORF1a 和 ORF1b,编码 2 个多聚蛋白,经裂解后形成 RNA 依赖的 RNA 聚合酶(POL)和螺旋酶(HEL),指导病毒基因组的复制,同时在负链合成期间产生嵌套的转录本(3'-端相同)用于病毒蛋白质的合成。冠状病毒编码的有 3C 半胱氨酸样蛋白酶(3C-like cysteine proteinase,3CLpro);同时还编码 1 个或 2 个木瓜蛋白酶样蛋白酶 $PLP1^{pro}$ 和 $PLP2^{pro}$,类似于手足口病病毒的先导蛋白酶 L^{pro}(图 7-2)。

其他的病毒蛋白从亚基因组 mRNAs 翻译而来。亚基因组 mRNAs 的合成是一个不连续的转录过程,亚基因组负链在其 3'端有一个互补的先导序列可作为合成的模板。S 蛋白为 I 型膜糖蛋白,其三聚体形成刺突突出于病毒包膜表面,刺突可与宿主细胞受体结合,使细胞和病毒发生膜融合。因此,其氨基酸残基的改变能显著影响病毒的毒力和病毒对宿主细胞的亲嗜性。某些冠状病毒的 S 蛋白可以裂解成 S1 和 S2 亚单位。核衣壳蛋白(N)在病毒装配期间形成螺旋状核衣壳(图 7-1)。核衣壳外是含 S、M、E 蛋白的脂质包膜。膜糖蛋白

(M)的N-末端结构域暴露在病毒的表面,而C-末端在病毒膜里面。M蛋白的N-末端常被糖基化,Ⅰ组和Ⅲ组冠状病毒为N-糖基化,Ⅱ组冠状病毒为O-糖基化。

冠状病毒也编码许多功能未知的非结构蛋白,这些ORFs分别位于S和E、M和N之间或者N的下游,非结构蛋白在不同种类的冠状病毒中变化很大,可能对病毒复制不是必需的,但和病毒的不同功能可能有关。

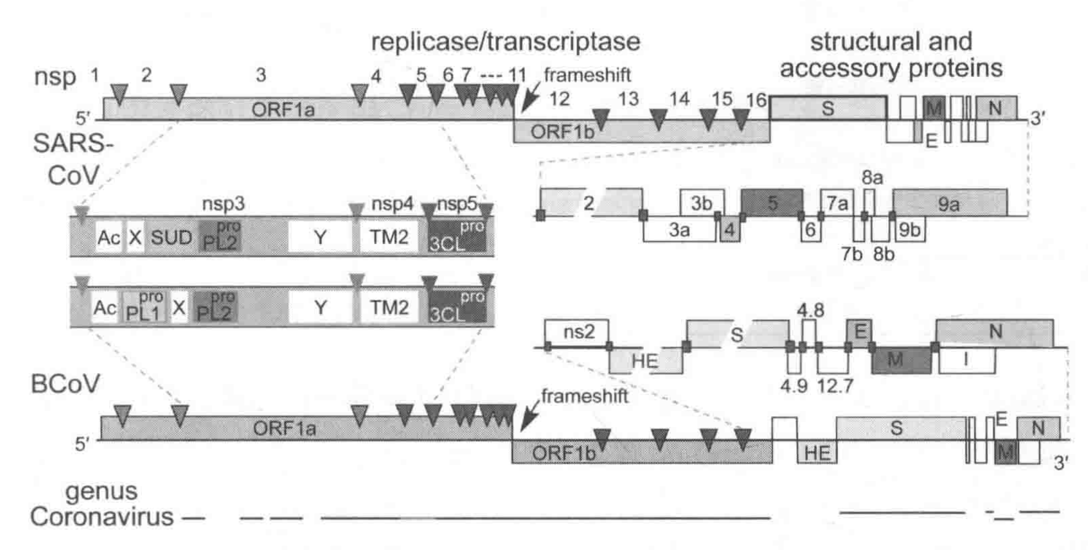


图7-2 SARS-CoV的基因组结构和表达及其和牛冠状病毒(BCoV)与其他CoV比较

1. 图内共5行条框状图形,第1、4行分别为SARS-CoV和牛冠状病毒(BCoV)基因组结构;第2、3行分别为放大之SARS-CoV和BCoV基因组结构的两个主要差异区域;第5行为冠状病毒属基因组保守区部分。2. 图顶层,replicase/transcriptase表示复制酶/转录酶;structural and accessory proteins表示结构和辅助蛋白。3. 图中画出复制酶基因ORF1a、ORF1b和核糖体移码部位(frameshift),箭头表示木瓜蛋白酶样蛋白酶(橙色)或3C半胱氨酸样蛋白酶(蓝色)所处在其相应的复制酶(replicase)多聚裂解位点。在基因组3-末端,同源结构蛋白基因以匹配的颜色显示。4. SARS-CoV和BCoV放大的两个主要差异区域内,在复制酶ORF1a N-末端一半处,SARS-CoV缺乏一个PL^{pro}域(在BCoV以橙/绿表示),而插入一个独特的片断(SUD)。5. 在结构和辅助蛋白基因区域内,参与亚基因组RNA合成之TRS(转录本调节序列)片断以红色框显示

[引自:Snijder EJ,Bredenbeek PJ,Dobbe JC,et al. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus,an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. J Mol Biol,2003,331(5):991-1004.]

(二)冠状病毒的分类

冠状病毒科病毒的自然宿主范围广泛,但只感染脊椎动物,从禽至人,与多种动物和人的疾病有关。冠状病毒的发病机制尚不清楚,动物年龄、遗传因素、感染途径和病毒株等都可能对冠状病毒的感染造成影响。根据抗原的差异性,将冠状病毒分为3个抗原组(群)(表7-1)。

第Ⅰ群:猪传染性胃肠炎病毒、猪呼吸道冠状病毒、犬冠状病毒、猫传染性腹膜炎病毒(FIPV)、猫肠炎冠状病毒、猪流行性腹泻病毒、人冠状病毒229E(HCoV-229E)。

第Ⅱ群:大鼠冠状病毒、大鼠涎泪腺炎病毒、牛冠状病毒、小鼠肝炎病毒(MHV)、猪血凝性脑脊髓炎病毒、兔肠炎冠状病毒、北海鸥病病毒、人冠状病毒OC43(HCoV-OC43)。

第Ⅲ群:鸡传染性支气管炎病毒(IBV)、兔冠状病毒、猴冠状病毒、豹冠状病毒、火鸡冠状病毒。

表 7-1　冠状病毒的血清学分组

组别	中文名称	英文名称	缩写
Ⅰ	人冠状病毒 229E	Human coronavirus 229E	HCoV-229E
	猪传染性腹泻病毒	Porcine epidemic diarrhea virus	PEDV
	猪传染性胃肠炎病毒	Transmissible gastroenteritis virus	TGE
	猪呼吸道冠状病毒	Porcine respiratory coronavirus	PRCoV
	犬冠状病毒	canine coronavirus	CCoV
	猫冠状病毒	feline coronavirus	FCoV
Ⅱ	牛冠状病毒	bovine coronavirus	BCoV
	小鼠肝炎病毒	murine hepatitis virus	MHV
	人冠状病毒 OC43	Human coronavirus OC43	HCoV-OC43
	猪血凝性脑脊髓炎病毒	Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus	HEV
	大鼠冠状病毒	rat coronavirus	RtCoV
Ⅲ	传染性支气管炎病毒	infectious bronchitis virus	IBV
	火鸡冠状病毒	turkey coronavirus	TCoV

按 2008 年国际新分类,冠状病毒属于套病毒目(Nidovirales)、冠状病毒科(Coronaviridae)、冠状病毒亚科(Coronavirinae);后者又分为 3 个属(genus):α、β、γ(图 7-3)。然而,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses ,ICTV)自 2011 起,在冠状病毒亚科内又增 1 属,为 α、β、γ、δ(参见图 5-1 冠状病毒系统聚类树图示)。为读者便于比较,本章将血清学分组和 2008—2011 年国际新分类同时运用。

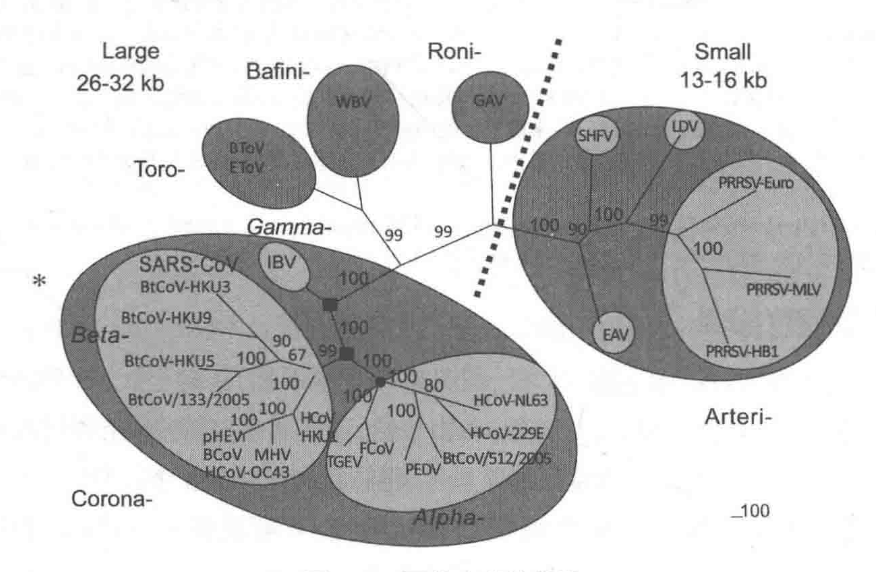


图 7-3　冠状病毒的分类

＊为冠状病毒亚科及其 α、β、γ 3 个属

(引自:Taxonomic proposal to the ICTV Executive Committee"Revision of the family Coronaviridae",2008)

[EB/OL](2010-02-02). http://talk. ictv online. org/fiks/ictv_official_taxonomg_updates_since_the_8 th_report/m/vertebrate-2008/1230. aspx.

二、SARS 冠状病毒的确认

2002 年 11 月严重急性呼吸综合征(非典,SARS)始发于我国广东,2003 年 2 ~ 3 月疫情波及香港、越南、新加坡和加拿大,3 月 12 日 WHO 警示世人注意 SARS 的流行。至 5 月 7 日,在许多国家和地区共发现 6903 例,死亡 495 例。3 月 21 日,香港大学首先从临床标本中分离到一种新的 SARS 相关冠状病毒。

Ksiazek 等在非洲绿猴肾细胞(Vero E6)中分离到引起细胞病变的病毒,直径 80 ~ 140 nm,称为 SARS-CoV。Drosten 等也同时在《新英格兰医学杂志》上发布了相似的结果。加拿大学者首先完成并公布了 SARS-CoV TOR2 株的全基因组序列。世界卫生组织(WHO)于 2003 年 4 月 16 日正式宣布,在世界各地流行的严重急性呼吸综合征(SARS)的病原体是一种新型冠状病毒,称为 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)。

三、SARS 冠状病毒的基因组特点

各国学者发现各地 SARS-CoV 基因组(图 7-2) 之长度存在微小差异, TOR2 株基因组全长 29 751 bp;美国的 Urbani 株为 29 727 bp;香港 CUHK 株 29 736 bp,HKU 株 29 742 bp;北京的 BJ01 株 29 725 bp。初步分析认为 SARS-CoV 突变率高,可能与 RNA 复制错误率较高有关;而我们认为,除此之外,和其特殊起源有关,因其他冠状病毒的基因也为 RNA(见下)。

Urbani 株的 GC 含量为 41%(已知冠状病毒 GC 含量 37% ~42%),基因组中有 11 个 ORF,其中 5 个为编码 50 个以上氨基酸残基数的非结构蛋白,分布在结构基因中,因功能未知,故以 X 表示。另外,还有一些小的(<50 个氨基酸残基)ORFs。

此外,SARS-CoV 基因组中的 AAACGAAC 序列可能是转录调节序列(TRS)的核心,常在 ORF1a、S、E、M、N 等 ORF 上游出现。

在此值得一提,一位国际著名冠状病毒专家在 SARS-CoV 基因序列公布后,立即发现许多重要问题。其中涉及基因序列本身的有两点:其一为 SARS-CoV 未含上述论及的血凝素-乙酰脂酶(HE)基因或来自别的病毒或宿主细胞的大基因,这位病毒专家虽未做进一步解释,但不难推测,SARS-CoV 这种特殊结构,可使其具有或失去某种特殊功能;其二为 SARS-CoV 基因序列竟是如此之快被测出。此两点均提示 SARS-CoV 基因为前所未有的特殊构成,具学者意料之外的特殊之处;是否还提示 SARS-CoV 起源有其非寻常之处,恐难除外。无论如何这位专家的重要发现,应引起分子病毒家的关注。

四、SARS 冠状病毒的蛋白组学特点

SARS-CoV 基因组主要编码 S、E、M、N 等结构蛋白和 POL、HEL、$3CL^{pro}$、PLP^{pro}等非结构

蛋白。3CL[pro]在所有冠状病毒中均比较保守,在 SARS-CoV 中它催化 His3 281 和 Cys3 385 的水解。SARS-CoV ORF1a 的产物在氨基酸残基 1632～1847 位仅含一个 PLP[pro]结构域。推测 SARS-CoV 核糖体移码的滑脱序列 UUUAAAC 在 13 392～13 398 nt,位于 ORF1a 和 1b 交叠的假节结构的上游(图 7-3)。大多数核糖体遇到滑脱序列时可以翻译它,并沿转录单元继续翻译直至终止密码;而有些核糖体识别这些序列时,由于一个核苷酸出现滑脱现象可使读框发生移位。假节结构的出现可暂停滑脱序列上游的翻译,增加下游读框的蛋白表达,这样产生的多聚蛋白将自动催化成熟为病毒蛋白酶(PLP[pro]和 3CL[pro])、RNA 聚合酶(POL)、RNA 螺旋酶(HEL)等。

SARS-CoV S 蛋白的氨基酸序列与其他冠状病毒 S 蛋白之间同源性很低(20%～27%)。其可能有 23 个 N-糖基化位点,N-末端有一个短的由疏水性氨基酸残基组成的 I 型信号序列,在翻译并通过内质网运输时可能被去除;C-末端由非常保守的一个跨膜结构域和一个富含半胱氨酸残基的细胞质束组成,推测在第 884～999 位有 1 个含 116 个氨基酸残基的 α 两性区域,介导细胞和病毒的膜融合。学者们普遍认为,和 SARS-CoV 传播力密切相关的、与人或果子狸受体血管紧张素转换酶 2 (angiotensin-converting enzyme2,ACE2)之结合位点,为基因 S1 318～510 位点。

SARS-CoV 包膜蛋白 E 跨膜区 25 个疏水氨基酸形成 α-螺旋结构,包埋于外壳磷脂双分子层中,N 端 10 个氨基酸残基位于膜外,C 端 41 个残基附着于磷脂双分子膜内侧。膜蛋白 M 的 N-末端含有 3 个疏水跨膜结构域,在 N-末端附近有一个 NGT,推测在第 4 位是 N-糖基化的。核衣壳蛋白 N 是含 422 个(冠状病毒通常为 377～454 个)氨基酸残基的碱性蛋白,蛋白中部有 7 个连续的疏水性残基。所有冠状病毒(包括 SARS-CoV)的 N 蛋白 N-末端都存在保守的 FYYLGTGP 序列,但各种冠状病毒在 N 蛋白其他区域的氨基酸序列同源性较低。

五、SARS 冠状病毒与冠状病毒的关系

SARS-CoV 是 21 世纪新发现的病毒,国内外各研究小组最初在其分类上存在分歧。2008 年,国际病毒分类委员会执委会提出“冠状病毒科修正案” 将 SARS-CoV 正式命名为“严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(severe acute respiratory syndrome-related coronavirus, SARS-rCoV”种中“人 SARS-CoV(SARS-HCoV 或 SARS-CoV)”,种内尚包括“蝠 SARS-CoV (SARS-Rh-BatCoV)”;属于巢状病毒目(order:*Nidovirales*)、冠状病毒科(family:*Coronaviridae*)、冠状病毒亚科(Subfamily:*Coronavirinae*)、β 冠状病毒属(Genus:*Betacoronavirus*)中 β 冠状病毒属 1(*Betacoronavirus* 1)。在此笔者指出一点:“蝠 SARS-CoV(SARS-Rh-BatCoV)”在目前文献常表述为蝠 SARS 样冠状病毒(Bt SL-CoV)或 SARS 样冠状病毒(SL-CoV),故

本书用后两者。

冠状病毒是一类在动物和人类中广泛传播流行的病毒，以前共发现有3个组群，有着相似的基因组结构；在自然的流行中，虽可发生病毒基因组的重组，但发现其仅限于同一组群中。2002—2003年SARS-CoV感染突然在中国南方出现，并以其特殊的传播方式在全球播散，通过对其基因组与其他冠状病毒的基因组系统进化比较发现，SARS-CoV基因组具有混合进化的特征，其复制酶编码基因高度同源于哺乳动物冠状病毒，故其传播力强；基质蛋白和核衣壳蛋白编码基因高度同源于鸟类或禽类动物冠状病毒；而表面刺突蛋白编码基因可能是鸟类和哺乳动物病毒成分拼凑成的混合体，其中部分序列与毒力较强的猫腹膜炎病毒基因在核苷酸序列上高度一致，另有一段约200个碱基对的区域与鸟类病毒基因序列非常相似；其S1部分则与鼠类病毒基因序列高度同源（冠状病毒 Group Ⅱ）；另有研究发现在其RDRP的编码基因部分也存在这种嵌合进化的特征。

通过基因组结构看，SARS-COV与其他冠状病毒具有同源性，同时也存在着相当大的变异，尤其是病毒编码的蛋白有5个与目前所知道的冠状病毒蛋白无一相似，所以认为SARS-COV“变异非同寻常”；从分子病毒学角度，也不能排除为非自然起源。若结合进化的时间，后者将得到进一步证明。

第二节　SARS-CoV 基因进化及特点

一种动物病毒，要通过跨种传播到人类，并最终适应人类宿主，必需面临两个瓶颈：①病毒表面蛋白通过积累有益突变，以适应人类细胞表面的受体分子；②病毒的关键复制酶，应适应对人类及其细胞内环境。其中，病毒表面蛋白对人类受体的适应首当其冲，直接决定着病毒是否能够实现跨种传播到人类。这种适应的过程就是病毒基因的进化过程，分为两个层面，即核苷酸的进化和氨基酸的进化。

然而，上述已提及的那位著名冠状病毒专家在此方面又有新的令人深思之重要发现。其在细致比较SARS-CoV和已知冠状病毒的基因与发病特点，以及分析人群感染SARS-CoV前后抗体的变化之基础上，做出两点非常重要的判断：其一，不仅认为SARS-CoV和其他冠状病毒一样，能同时经呼吸道和肠道传播，故传染迅速；而且还推测SARS-CoV的人群致病性强、病死率高之特点是和宿主基因有关：如家猫冠状病毒（笔者注：可巧，上节已指出SARS-CoV部分序列与致猫腹膜炎的冠状病毒基因在核苷酸序列上高度一致）可致某些肉食动物死亡；再如某些患冠状病毒之动物可并发其他病毒、细菌和寄生虫病而致死。其二，

SARS 冠状病毒既不是任何已知冠状病毒的突变体也不是重组体。它是一种既往未知的冠状病毒,可能来自非人类宿主,并以某种方式获得了感染人类的能力。由此可见,这位病毒专家此两点非常重要的判断同样提示,SARS-CoV 进化决非寻常,即其起源有十分独特之处。

一、SARS-CoV 基因的核苷酸和氨基酸之变异和进化

与具 35 个氨基酸发生改变之 2004 年 SARS-CoV 毒株相比,2003 年的毒株仅有 32 个改变。而在氨基酸置换中,第 227～229 核苷酸位点变异较有意义,因为除 2003 年果子狸的 SZ-3毒株和 SZ-16 毒株外,所有其他人和果子狸毒株均发生糖基化改变。

(一)S 基因

SARS-CoV S 蛋白负责识别靶细胞表面的受体分子,并感染靶细胞。因此,其不仅在病毒侵入宿主细胞时发挥作用,且对其跨越种间障碍十分重要。可见,在 SARS-CoV 进化中,S 基因必定发生了必要的突变,使其获得识别和结合人类 ACE2 受体的能力。反之,若 S 基因在病毒不适应的宿主(人或狸)环境下,发生了逆向进化,使其回复到其祖先状态,将降低甚至丧失“已获得之识别和结合人类 ACE2 受体的能力”(见下)!

S 基因可分为 S1 和 S2 两部分,其中 S1 识别敏感细胞表面的受体,S2 介导病毒包膜与宿主细胞膜融合。通过对 104 株毒株研究发现,其均发生不同程度的变异:①所有人株中 9 个氨基酸发生变异并增加 1 个糖蛋白位点,而狸株变异率不同;②部分毒株中另有 27 个(2.2%)氨基酸发生变异;③部分毒株中核苷酸中有 15 个位点发生置换,但均为同义突变。

比较 SARS-CoV 2004 年与 2003 年毒株之 S 基因序列可以发现:两类毒株除氨基酸位点 227、261、607、754、894 均发生置换外:① 2003 年毒株另有 360、479、487 和 665 发生置换,而 2004 年毒株却无;②2004 年毒株另有 239、743 置换,而 2003 年毒株却无。

必须指出,上述指出的 S 基因 9 个氨基酸变异和增加 1 个糖基化位点,可能为适应疾病致病和传播的必要条件。然而,此类变异是自然进化还是非自然进化所致,尚需深入研究。

(二)M 基因

M 基因共 666 个核苷酸序列,编码 221 个氨基酸。M 蛋白专供细胞内膜结构的识别,M、E 和核衣壳的相互作用导致病毒以出芽的方式释放。

研究发现 M 基因也有变异,但狸株的 M 基因中仅有第 5 位丝氨酸置换为人类毒株甘氨酸,而且是去糖基化,可能在影响抗原性方面作用微弱。

以毒株 SZ-3 为基准,对 104 株的 M 基因核苷酸序列分析发现,有 102 株发生核苷酸置换或缺失。共 9 个氨基酸位点变异,其中 38 株中有 8 个氨基酸位点置换;另人类 102 株中,

有 1 个氨基酸位点置换并导致 1 个糖基化位点消失。此外,38 株人毒株发生氨基酸置换变异,比例为 4.1% (9/221)。

(三)E 基因

E 基因共 231 个核苷酸,编码 76 个氨基酸。E 蛋白为小包膜蛋白,与病毒的装配有关。分析 104 株 E 蛋白发现,6 株的 4 个氨基酸位点发生置换,占氨基酸比例的 5.1% (4/76);此外,2 株发生缺失变异。

(四)N 蛋白

N 基因共 1269 个核苷酸,编码 422 个氨基酸。N 蛋白是病毒的一种重要结构蛋白,它分别在病毒包装和 RNA 的转录与复制中发挥作用。

以毒株 SZ-3 为基准,对 104 株分析发现, 11 株发生核苷酸置换,6 株氨基酸置换,3 株缺失。共 3 个氨基酸位点变异,有 3 个糖基化位点。

二、SARS-CoV 基因进化的特点

(一)SARS-CoV 基因的进化速率异常快

香港中文大学的研究发现,与 SARS 相关的冠状病毒进化速度惊人;在比较不同样本之基因排序中发现,病毒在人传人的过程中,变异速度迅速,上一代的基因密码会遗传至下一代的基因,而后者的基因又有新的变异。

中大医学院跨部门 30 名专家的研究组,对 11 名患者分析,发现在威尔斯亲王医院出现大规模感染前,社区已有 SARS-CoV,且在每次人传人时,都会出现基因变异。甚至短短 2 周内,病毒已经发生变异。

有学者测定 SARS-CoV 进化速率为 8.0×10^{-6}nt 替代/(位点・天)。我们的研究结果相似,同时通过比较 SARS-CoV 和其他 3 组冠状病毒之间 5 个主要基因的中性进化速率,我们发现前者的速率是后者的 3 ~4 倍(图 7-4)。虽然其他 3 组冠状病毒的 R^2 均不高,但我们以多方面证据表明其不是由混杂因素引起,主要由样本量少所致。因而,基本上可量化地表明 SARS-CoV 的进化速率异常快。

众所周知,包括人在内的每种生物在自然状态下,自发突变的频率很低;且低等生物突变频率低于高等生物。虽然同科生物不同属间可有不同的突变频率,但通常相差并不悬殊。可是,学者们的研究结果均显示:SARS-CoV 进化速率异常快。此种异常,不能排除其为非自然起源所致的可能性。

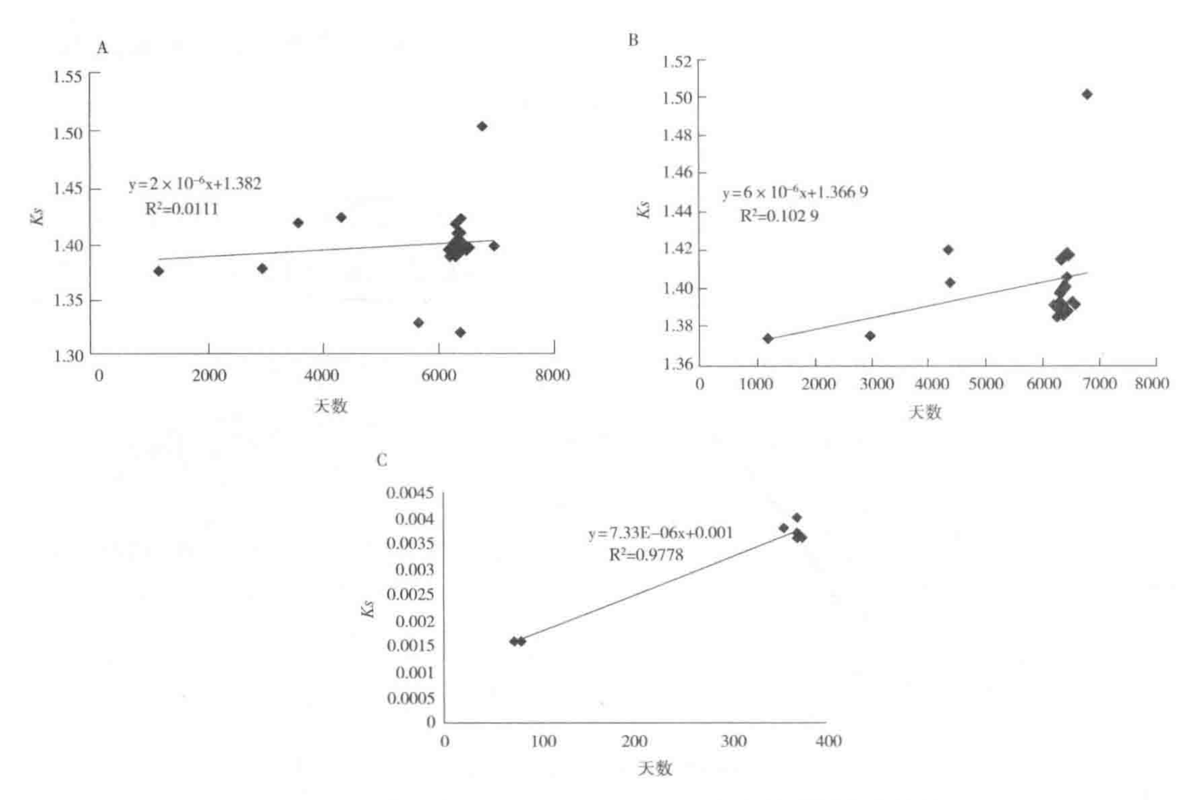


图 7-4 冠状病毒亚科和 SARS-CoV 间 *Ks* 与直线回归之比较

Ks(序列中同义替换核苷酸的数量)和直线回归:A. 三组冠状病毒;B. 第一组冠状病毒;C. SARS-CoV

(二)不同地区的 SARS-CoV 基因组具有相对稳定性

整体突变率显示,不同地区的 SARS-CoV 基因组保持相对稳定。

(三)SARS-CoV 基因组的突变部位和突变率

对现有毒株的初步分析显示,突变部位主要集中在 RNA 聚合酶区域;但若同时考虑"突变的 ORF 长度",则下述公式可表达突变率和 ORF 长度两者之间的关系:突变率=突变碱基的数目/该突变 ORF 碱基总数。故进一步研究发现,若突变碱基的数目不变,开放阅读框越长,其突变率越小;因而 SARS-CoV 基因组结构蛋白编码区的突变率要高于聚合酶编码区,非结构蛋白和 PUP(putative uncharacterized proteins,认定的未知蛋白质)高于结构蛋白(表 7-2)。所以,突变数目和突变率在 SARS-CoV 基因组各部位呈现不同趋势。

表 7-2 BJ01/Urbani//CUHK/HKU 基因组不同部位碱基替换数和替换率

替换部位(ORF 或其表达蛋白区)	发生替换区域长度(nt 数)	替换数目	替换率(%)
RNA 聚合酶	21 220	19	0.09
S 蛋白	3767	4	0.11
M 蛋白	665	2	0.30

续表

替换部位(ORF 或其表达蛋白区)	发生替换区域长度(nt 数)	替换数目	替换率(%)
PUP1[1]	824	4	0.49[2]
PUP3	191	1	0.52
Non-ORF		1	
合计	29 725	31[3]	0.10

1. PUP-putative uncharacterized proteins;2. 原文为0.46,可能其计算存误;3. 原文为30,可能其计算存误

[引自:Qin E' de,Zhu Qingyu,Wang Jian,et al. A complete sequence and comparative analysis of a SARS-associated virus (Isolate BJ01). Chinese Science Bulletin,2003,48(10):941-948.]

这一基因组结构的突变部位分布规律,初看或表面上分析,其似与病毒功能上的稳定性具有一定的一致性。然而,若结合 SARS-CoV 基因组的突变部位和流行过程中突变速率与趋势,同时结合流行过程中流行病学规律和临床特点之变化,答案应该是否定的,其理由见下。

三、SARS-CoV 基因进化特点的流行病学和临床医学意义

(一)SARS-CoV 基因的进化速率

上文已多方面证实:SARS-CoV 的进化速率较其他冠状病毒快,甚至快很多。尤其是我们量化的研究发现其速率为后者的3~4倍(图7-4)。在此,应特别指出两点:①在某种意义上,病毒进化速率快反映其基因突变多,甚至突变频率高;②而进化速率快或基因突变多并未反映其方向性,即不能确定病毒(在此为 SARS-CoV)进化是"正向进化"还是"逆向进化(详见下文)"。欲解答此问题,必须进行分子系统发育学和流行过程中许多毒株序列的比较分析研究。

(二)SARS-CoV 基因组的突变部位和突变率及其流行病学和临床医学意义

对于突变部位和突变率本文已提及;在此,可将"基因组突变"内容明确分为两部分叙述:即"毒株序列突变部位"和"蛋白编码区突变率"。上文已对文献有关观点进行初步总结:"现有毒株初步分析显示,突变部位主要集中在 RNA 聚合酶区域;但若以突变 ORF 的长度计,则结构蛋白编码区的突变率要高于聚合酶编码区,非结构蛋白高于结构蛋白"。

为了深入讨论基因组突变部位及其流行病学和临床医学意义,我们对有关编码区"SARS-CoV 基因组突变部位和突变率(即"基因组不同部位碱基替换数和替换率",表7-2)"进行综合描述和分析如下:

1. 聚合酶编码区,即 ORF1a 和 ORF1b 突变多见,但突变率不高。

2. 非结构蛋白质区,即包括 PUP1、PUP3 和 nsp 在内的某些编码区突变多见,且突变率高。

3. S 基因编码区突变多见，且突变率较高。

4. M 基因编码区突变少见，但突变率高。

无可讳言，此 4 种编码区不仅突变较多见和/或突变率较高，而且其与 SARS-CoV 毒力和传播力紧密相关，甚至和跨越种间屏障有一定联系。我们近期发表的文献对此均有详细叙述；但在此章为突出其和进化与生物功能之关系，特加以强调如下。

首先，基因 S1 区编码的 487、479 位氨基酸突变十分重要：2002—2003 年流行中的 SARS-CoV 株的 S 蛋白环 RBD(receptor-binding domain)结构和人受体 ACE 2 之间的结合界面，若增加电荷和关键甲基基团缺失，则其和人受体结合的亲和力相差 1000 倍以上，正如 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发中人-狸 SARS-CoV 株那样(表 7-3)。

表 7-3 SARS-CoV(Bt SL-CoV [#])S1 区 487、479 位 AA 在不同宿主和流行期之间的变异或进化

SARS-CoV 或 Bt SL-CoV 宿主和年代		479	487
[1]蝠(亲代 3)	1998 前后	S	V
?? (亲代 2,1)	1998—2002	??	??
[2]果子狸	2002—2003	R、K、N	S
	2003-12—2004-1 广州爆发	N、R、	S
人	2002-11—2003-7 早期	N	[3]T
	2002-11—2003-7 中晚期	N	T
	2003-12—2004-1 广州爆发	N、K、R	S

Bt SL-CoV：蝠 SARS 样冠状病毒；1. Bt SL-CoV：479 位仅为 S(丝氨酸，serine)，487 位仅为 V(缬氨酸，Valine)；同时，我们将 Bt SL-CoV，如 Rp3 株称之为 SARS-CoV 的"曾祖父(亲代 3)"，而其"祖父"和"父亲"分别称为亲代 2、1；2. 果子狸 SARS-CoV：479 位仅有 3 种 R(精氨酸，arginine)、K(赖氨酸，lysine)、N(天冬酰胺，asparagine)，487 位仅为 S；3. T-苏氨酸，Threonine

其次，SARS-CoV 独特的附属基因即开放读码框 8 (ORF8)，含特征性 29-nt 序列：CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT(nt. 27869-27897，笔者称其为"变 29-nt")。然而令人惊奇：蝠(亲代 3)也含特征性 29-nt 序列，仅序列位置提前 3 位：CCAATACATTACTAT-TCGGACTGGTTTAT(nt. 27866-27894，笔者称其为"原 29-nt")；更使人关注者，除从受染果子狸和 2002—2003 年流行早期极少数患者以及 2003 年 12 月至 2004 年 1 月期间广州爆发患者分离的 SARS-CoV 外，ORF8 特征性 29-nt 在大部病例中缺失(称"变 29-nt"缺失或 29-nt 缺失，表7-4)。故结合 SARS 在上述不同时期的流行病学和临床特点之变化，可判定特征性 29-nt 缺失关系到 SARS-CoV 从动物至人类的适应性；实际上，对特征性 29-nt 及其缺失的意义，早有许多文献阐述。

表 7-4　ORF8 特征性 29-nt 序列在不同宿主和流行期之间的变异或进化

SARS-CoV 或 Bt SL-CoV 宿主和年代		ORF8 特征性 29-nt 序列
[1]蝠(亲代 3)	1998 前后	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866-27894(原 29-nt)
?? (亲代 2,1)	1998—2002	??
[2]果子狸	2002—2003 2003—2004	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt. 27869-27897(变 29-nt)
人	2002-11—2003-7 最早期少数病例	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt. 27869-27897(变 29-nt)
	2002-11—2003-7 早中晚期	"变 29-nt" 缺失
	2003-12—2004-1 广州爆发	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt. 27869-27897(变 29-nt)

1. Bt SL-CoV,"原 29-nt"为蝠独有;2. 果子狸 SARS-CoV,仅具"变 29-nt"。

再者,ORF1a 基因 nsp3 区有一独特的 CDS(coding sequence),仅存在于 SARS-CoV 和某些相关蝠病毒内,其他任何冠状病毒均无,故称为 SUD。其功能可参与调节病毒复制、抵抗受感染宿主的免疫反应。2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发的 SARS-CoV 中 ORF 1a 基因 nt. 6295 突变,导致 nsp3 的 SUD 出现终止密码子,此可能和病例症状轻与传染性低相关。

(三)SARS-CoV 基因进化的方向

前文指出,SARS-CoV 进化速率快和基因突变多,但并未反映进化之方向性。从本段第二小节的论述可初步显示,无论 S1 区 487、479 位 AA、ORF8 特征性 29-nt 序列,抑或 ORF1a 基因 nsp3 区 SUD 之突变均为逆向进化,即突变使 2003—2004 年广州爆发人毒株内这些序列,均不同于(或远离)2002—2003 年中晚期流行株,而是返回到或趋向于其祖先株,即作为早期传染来源之果子狸株。

可见,整个流行期间,SARS-CoV 基因进化方向是反向的。换言之,SARS-CoV 进入人群后经历了逆向进化之过程,直至离开为止(详见下述)。

(四)基因组结构的突变部位分布与病毒功能稳定性是否具有一定的一致性

由于此问题涉及 SARS-CoV 的突变规律、功能变化、进化过程和起源诸重要领域,学者之间看法又不一,应有深入讨论之必要。

1. 突变部位分布规律　如上,已用多种方式表达:其突变部位比较集中、某些重要位点突变频率较高。

2. 这些突变对 SARS-CoV 功能的影响　业已指出,这些突变,尤其 S1 区 487 与 479 位 AA 和 ORF1a 基因 nsp3 区 SUD 之突变以及 ORF8 特征性 29-nt 序列缺失,对 SARS-CoV 功能的影响很大甚至极大;而此种影响是负面的,即促使 SARS-CoV 发生回到其祖先株的逆向进化。

3. SARS-CoV 功能是否具稳定性　由上不难发现,尤其结合流行病学和临床医学特点之变化,更易判定:在 SARS 整个流行期间,SARS-CoV 基因的功能不仅发生了明显的改变,

而且是颠覆性的改变。病毒的主要功能应为复制、释放、传播、侵入宿主细胞和抵抗宿主免疫力的攻击等。而由于流行过程中 S1 区 487 与 479 位 AA、ORF8 特征性 29-nt 序列和 ORF1a 基因 nsp3 区 SUD 之突变或缺失,使这些功能均受到毁灭性之打击,以致流行末之广州爆发病例病情轻、无续发传播能力,最终使 SARS-CoV 在人类和自然界消失!

而最有力的反证是,发生在广州爆发后 3 个月的北京-安徽实验室感染病例,是由贮存于实验室、未经人群中逆向进化之 2002—2003 年流行株引起,病情重、病死率高(1/9),传播力强;存在超级传播者。

若在流行过程中,SARS-CoV 功能具稳定性,如何解释这种 SARS 流行自然史?!

在此必须指出,现在国内外学术界,包括流行病学在内的预防医学界本身,有一种不利于科学研究真实性之倾向:偏重于实验室或微观的某些结果,却不重视甚至忽视流行病学和宏观的研究结果。可能这正是至今仍在自然界追寻但实际并不存在的 SARS-CoV 贮存宿主和未能揭示 SARS-CoV 真实起源之重要原因。

4. 基因组结构的突变部位分布与病毒功能稳定性之间的一致性无从谈起 我们已从多方面论证并判定:在人群流行中,SARS-CoV 的重要功能均由于突变受到极大影响,甚至破坏性打击,因此,SARS-CoV 功能不仅不稳定,而且自始至终处在变化之中。不言而喻,谈论"基因组结构的突变部位分布规律与病毒功能稳定性之间的一致性"已无逻辑学基础。

四、SARS-CoV 的基因进化过程及其在自然界和人类中消失

以上已反复论及 SARS-CoV 基因进化特点的流行病学和临床医学意义,可见,其作用十分重大! 由于我们对 SARS-CoV 基因突变和进化过程进行了细致、全面、前后对照以及结合流行病学与临床医学变化,且和其他病原体进行历史性之比较研究,发现 SARS-CoV 存在逆向进化,并得出结论:除实验室外,至今在自然界和人类中已无 SARS-CoV,后者在自然界无贮存宿主且为非自然起源。

具体细节和缘由将在下段论述。

第三节 逆向进化和 SARS-CoV 逆向进化

一、生物的逆向进化

我们在研究 SARS-CoV 系统发育及其和流行之关系时,发现 SARS-CoV 的进化历程有非常特别之处,即存在"逆向进化(reversion evolution)"。学者将其定义为"再获得祖先状态"或"相同特征的分枝群体,经包括适应在内的方式,再获得祖先群体的特征";且指出,其

是进化过程的组成部分,在生物界包括微生物界普遍存在。故我们认为,在自然状态下的生物进化长河中,“逆向进化”可能主要是“顺向进化”之补充与协调,为进化主流之曲折与迂回。事实上,逆向进化在生物界随处可见,仅是除少数涉及人类健康或生活的事件外,不易引起人们甚至科学家的注意。

与人类生存环境密切相关的逆向进化,也有进行长期研究的经典实例:19 世纪下半叶欧美工业空气污染和随后进行治理引起的胡椒蛾桦尺蠖(peppered moth, Bistonbetularia),由淡色变黑又逐渐变回的逆向进化;而且最近仍有研究报告。

逆向进化和顺向进化共同构成了生物的进化。我们发现,在 HIV-1 进化中,也存在逆向进化。虽然研究者未直接用“reversion evolution”,但在表述研究结果时,选择了“retrieve”,“revert”,甚至“evolves toward ancestral states”,“frequent reversion”等这些词或句。可能是作者认为其尚未达到“reversion evolution”之程度,或作者尚未意识到逆向进化。因为,学者们发现,在 HIV-1 受染者体内,病毒株的突变或变异趋向“ancestral states”或“ancestral sequence”甚至“ancestral strain”。和宿主内进化率相比,HIV-1 在宿主间(流行)的进化率非常明显的减速,减慢 2 ~ 6 倍,其原因有 3 种机制,而主要机制是和 HIV-1 在受染者体内“store and retrieve”有关。有人纵向追踪还发现,患者受染 2 ~ 3 年 HIV-1 的进化,均朝向感染时的共同祖先,反映其感染新宿主时,回复了某些祖先特性。学者们还指出,此类回复现象和 HIV-1 的变异、免疫逃逸、抗药性、毒力和传播,甚至 AIDS 的治疗与疫苗设计等有关;可见,HIV-1 的逆向进化和 AIDS 之流行与防治关系密切。

二、SARS-CoV 的逆向进化

和上述生物相比,SARS-CoV 的逆向进化有非常明显之不同。

(一)2003 年末至 2004 年初广州爆发中 SARS-CoV 和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行早期之遗传距离较晚期的更近“逆向进化”之证据

通常将 2002 年 11 月至 2003 年 7 月之流行,分成早期、中期和晚期 3 个阶段。Song H 等于 2005 年将 91 条患者与 5 条狸 SARS-CoV 序列的全部单核苷酸变异(single nucleotide variation,SNVs)和缺失构建了无根系统发育树。我们在系统查阅和分析 SARS-CoV 系统发育文献时,发现 Song 论文中构建的这颗系统树中呈现:在流行过程中,SARS-CoV 进化异常甚至反常的表现:2003 年末至 2004 年初广州爆发中 SARS-CoV 和 2002—2003 年流行早期之遗传距离较晚期的更近;但 Song 等论文作者本身却未发现或忽视了这种进化异常或反常。

此外,其他学者构建的多种系统树均证明上述研究结果;且同类文献系统发育树也呈类似趋势。

很遗憾,虽然这些学者均应用先进方法进行研究,以不同方式给出上述可靠的结果,论证了 SARS-CoV 分子病毒学或进化的某些新规律,但却未发现十分重要、可揭示 SARS-CoV 真实起源的逆向进化之存在!这真是历史性之遗憾,否则“SARS-CoV 真实起源”可提前近 10 年公诸于众!

(二)SARS-CoV 受体结合位点重要氨基酸出现“逆向进化”

目前公认,蝙蝠 SARS 样冠状病毒(Bt SL-CoV)是 SARS-CoV 隔数代的共同祖先,尤其是 Rp3 株,我们将其称为 SARS-CoV 之“亲代 3”,而其和 SARS-CoV 之间还有许多代,暂以亲代 2、1 为代表,便于理论阐述。笔者戏谓:SARS-CoV 之曾祖父已寻见,但其“祖父”和“父亲”还在世界的某个角落里。

学者们在研究 SARS-CoV 受体结合位点氨基酸(AA)时普遍认为,和 SARS-CoV 传播力密切相关、与人或果子狸受体血管紧张素转换酶 2 (ACE2)之结合位点,主要为 S_1 318-510 位点。其中,487、479 两位 AA 尤为重要。研究者的宗旨是寻找和跨种传播有关的突变热点,同时探索 SARS-CoV 进化特点。但这些资料却如上述 Song 之研究在客观上为笔者“逆向进化”的论述提供了科学依据。

479 位 AA:病毒在 Bt SL-CoV(亲代 3)为 S;至 2002—2003 年流行时果子狸株,为 3 种 AA 同时存在:R、K、N;而患者株,仅有狸株中的 1 种:N;令人惊异的是,2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发时狸株,仅为原先 3 种中的 2 种:R、N;其时人株却和 2002—2003 年流行时狸株相同,为3 种:R、K、N 同时存在(表 7-3)。

487 位 AA 也有类似进化历程:病毒在 Bt SL-CoV(亲代 3)为 V;至 2002—2003 年流行时狸株,为 S;人株为 T;同样,广州爆发时狸株和人株,均为 S(表 7-3)。

很显然,上述 2 位 AA 从早期祖先 Bt SL-CoV 开始,直至 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发止,其变异进程经过了一个或多个不完全的回复突变,2 位 AA 在 03-04 人株均向 02-03狸株“逆向进化”。

其他学者构建之 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV S1 区 487,479 位 AA 的两种系统发育树,以更清楚、更翔实的数据和结果支持我们的研究观点,使我们关于 SARS-CoV 存在逆向进化之论述具更加广泛而牢固的基础。

(三)ORF8 特征性 29nt 片段也存在“逆向进化”

人和果子狸 SARS-CoV 基因组 ORF8 的特征性 29nt 序列(nt27869-27897,变 29-nt),在大部分 SARS 病例中缺失(表 7-4)。ORF8 表达之蛋白在细胞内可能参与调节 SARS-CoV 复制,并和致病力有关,故 29nt 缺失将严重影响(增强或减弱)这些功能。

由于特征性 29nt 逆向进化对 SARS-CoV 真实起源研究的重要性,我们在此对特征性 29nt 变异和缺失、进化过程及其意义综述和强调如下。和 S1 区 487、479 位 AA 十分类似,ORF8 特征性 29nt 在 SARS-CoV 进化历程中,也存在极其相同之“逆向进化”。而在 Bt SL-CoV 中,亦具 ORF8 特征性 29nt 序列:CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT(nt 27866-27894,原 29nt),且①仅在蝠内,为其特有;②系统发育学分析,和宿主蝠联系紧密;和上述人与狸中 29nt 序列相比,核苷酸位点提前 3 位,是直系基因位置关系(anorthologous genomic position),有 12 位核苷酸呈多态性。分子进化分析尚发现,虽然“变 29nt”在人与包括果子狸在内食肉目之间或食肉目内部的病毒-宿主转移次数多而杂,但“变 29nt”的存在和宿主相

关,甚至有的呈统计学显著性相关。提示,特征性29nt序列具宿主特异性。

果子狸SARS-CoV中,均为"变29-nt",但正如前述,在人群2002年11月至2003年7月流行中,除最早期少数病例外,绝大部分病例病毒的29nt均缺失;而在2003年12月—2004年1月广州爆发病例中,却又出现"变29nt"(表7-4)。无疑,在人群流行之中,其呈现逆向进化!

为明确ORF8 29nt在SARS-CoV中的空间构象,Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium在科学杂志文章附件中,专门画出其定位区Orf7b-Orf8之RNA二级结构。笔者在此将其转载,以使读者更有感性认识(图7-5)。

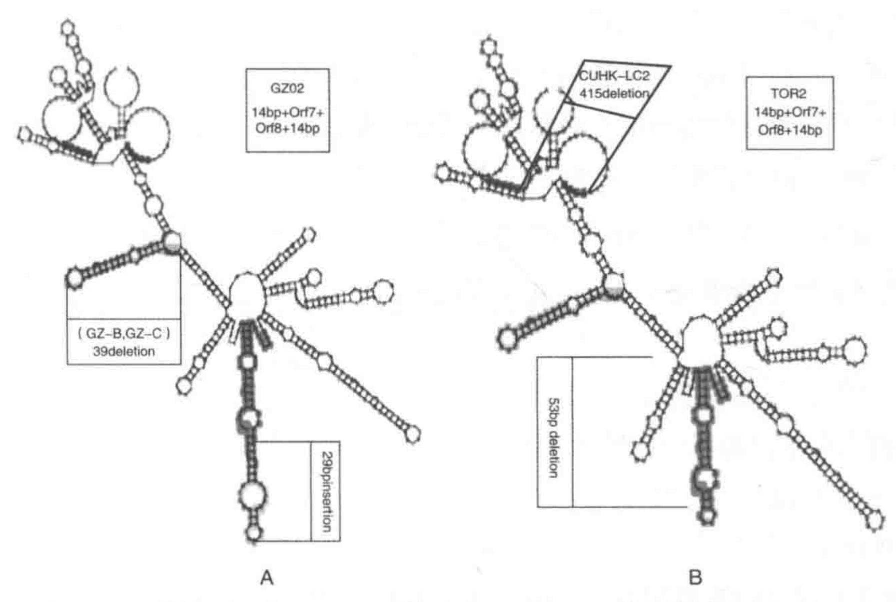


图7-5 SARS-CoV基因组Orf7b-Orf8的二级结构

A. 为流行初期GZ02病毒株,代表具特征性29-nt之SARS-CoV;B. 为流行晚期TOR2病毒株,代表流行期间绝大多数缺失特征性29-nt之病毒

(引自:Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China. Science,2004,303:1666-1669.)

第四节 SARS-CoV逆向进化的原因和SARS-CoV起源与消失之假设

一、SARS-CoV逆向进化的特点和原因

(一)SARS-CoV逆向进化的特点

需特别强调,SARS-CoV的逆向进化和以往提及其他生物的逆向进化方式均有明显差

异,也即其逆向进化方式可能在地球生物进化史上尚未见过。笔者归纳,其主要特点如下。

1. SARS-CoV 的进化,并非完全在自然界和人类中自然发生。

2. 病毒寿命(也可为进化历程)之短,在同类病毒或病毒界甚至更大范围的生物领域可能绝无仅有。

3. 其毒力和传播力变异相当悬殊,强时致病 8098 例,致死 774 例;弱时仅在 1 城市致病 4 例,无续发。且两者时间间隔仅半年多,为生物界传染病进化史之一瞬间。

究其缘由,不言而喻,因为 SARS-CoV 为非自然起源,是人为所致;由此可见,SARS-CoV 出现之本身,在人类微生物学、传染病学和流行病学,甚至生物学发展史上具里程碑意义:这是地球上第一个非自然起源(经基因改造和动物群体性适应试验制成的人工品)的生物新品种!我们首次探察到这类生物新品种产生并进入自然界和人类后所经历的进化和逆向进化之历程!其后果可能将远远超出一种新发传染病所带来的影响,而对生物学、医学、生态学等自然科学和社会科学甚至国际其他领域产生巨大冲击!

(二)SARS-CoV 的逆向进化与消失之原因

1. 生物逆向进化的机制 逆向进化出现的机制可能很复杂,从现有资料,笔者归纳为如下诸点:

(1)自然状态下,环境的选择性很复杂,生物需以无数方式去适应。

(2)生物现有基因和基因型的发展和变化空间非常大,甚至难以胜数,故生物有能力去适应内外环境之变化。

(3)群体保留一种进化记忆,可通过持续的遗传变异,重新获得其不久前的进化。

2. 生物逆向进化的直接起因 逆向进化出现的直接原因,主要是生存环境发生了变化。笔者综合许多实验研究结果和论述,已初步发现了影响其出现程度和速度之一些因素:

(1)*时间因素*:若一个群体迁入一种新环境时间很短,其易保持长期所处的“祖先环境”产生之“永久遗传变异”;后者可能是生物进化中的一种遗传记忆。

(2)*基因型选择*:当生物进入一种不能适应的环境时,籍逆向进化返回祖先状态时,选择现有基因型中有利于祖先环境变异的频率将增加。

(3)*适应性变异不足*:在新环境中,生物产生新的选择变异株少,反映其适应新宿主或环境的选择性差,有利于逆向进化之形成和发展。

3. SARS-CoV 逆向进化和消失之原因 由以上许多证据可见,SARS-CoV 在传入人和果子狸等动物后,即不断受到强大的“逆向进化”之压力。

主要原因为如下:

(1)*SARS-CoV 产生后未经历或全部完成近缘宿主群体的适应性试验*:笔者可以在此做出这种判断。因为多位学证实 SARS-CoV 产生离祖先病毒株仅 4 年多时间,故从目前流行病学、系统发育学和生物技术理论推测,SARS-CoV 产生后,不可能在进入人群前在人类亲缘

关系很近的动物群体内做流行试验或完成此类试验,故人类必然是其非常不适应的新宿主。

(2)生物逆向进化的时间因素:如上指出,“若一个群体迁入一种新环境时间很短,其易保持永久遗传变异”;SARS-CoV 非常类同,其产生后,迅即进入一个全新的陌生环境,故易保持祖先环境产生的永久遗传变异。

(3)SARS-CoV 缺乏新的适应性变异:在新宿主中,SARS-CoV 新的选择性条件差,未见新的适应性变异;相反,其进入人群后,很快丢失了从其祖先株获得的“特征性 29 nt 序列”,继之又出现了一系列的逆向进化。实际上,又可反推,很可能此种“特征性 29 nt 序列(变 29 nt)”,非经自然进化所致!

由此,在流行一年后,SARS-CoV 毒力和传播力剧烈下降,不久即在人类和自然界消失;从自然进化史视之,离开人群和/或回归其祖先状态是其唯一的、最好的结局。

若高度概括,可用一句话点明 SARS-CoV 逆向进化的原因:此病毒完全不适应于人类!而为何“SARS-CoV 完全不适应于人类”?在流行病学上之唯一答案:因 SARS-CoV 为非自然起源,即其不是在自然界由自然进化产生!

二、SARS-CoV 非自然起源及其学术假设

(一)SARS-CoV 非自然起源的主要依据

本章实际上主要围绕 SARS-CoV 的逆向进化和非自然起源展开论述和讨论。在此,在做出“SARS-CoV 的起源和逆向进化假设”前,笔者有必要再简要回顾 SARS-CoV 的出现、进化和流行及其研究过程中的主要特点。

1. SARS-CoV 的最早祖先最可能是 Bt-SL CoV (Rp3 株),两者共同祖先时间约距 SARS 爆发 4.5 年。若仅经如此短时间的自然进化,不符合病毒进化规律;换言之,如此短时间的进化,必为非自然进化。

2. 至今未在动物中找到 SARS-CoV 的直接祖先和贮存宿主;这在人类传染病流行及其研究史中,未见先例。

3. 除 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发和实验室感染外,并无疫苗预防,SARS 整个流行仅持续 8 ~9 个月;且爆发和消失的时间点均突然;亦属史无前例。

4. SARS 和其他人冠状病毒疾病的流行病学和临床特点相去甚远,即不符合其他人类冠状病毒疾病之规律。

5. SARS 与 SARS-CoV 和近年来出现的新发传染病之病毒进化和流行过程之普遍规律反常。

6. SARS-CoV 进化中出现许多逆向进化之特点,在迄今人类病毒性疾病流行之病原体进化史上独一无二。

7. SARS 发生流行时,8 个多月(2002 年 11 月至 2003 年 7 月) 即在全球 29 个国家和地

区共发生8098例，但此后除2003年12月至2004年1月广州爆发和实验室感染外，至今10年多再未见人类和动物受染；和所有人类病毒性疾病之流行自然史反常。

凡此种种，均证明：SARS-CoV的起源非同一般，不具自然进化之特点，是非自然起源，即SARS-CoV由Bt SL-CoV（Rp3株）或类似病毒株经基因改造结合群体适应试验等方法所产生；否则不能解释上述诸点。

（二）SARS-CoV非自然起源和逆向进化的假设

根据上述的论证，结合科学思考，笔者初步构建了"SARS-CoV的起源和逆向进化假设"的框架（图7-6）。

关于此图，除了注释外，还需讨论一个人们关注之要点，即基因改造结合群体适应试验等方法。本书多处已提及同一问题。在本书第四章做了详细介绍。值得一提的是，近一、二十年来多种媒体和渠道均论及，人类早就掌握这种或类似的方法。因此，毫无疑问，在2000年前后某些恐怖主义者已初步甚至熟练掌握将蝠Bt SL-CoV Rp3或类似病毒经非自然改造成SARS-CoV的技术。

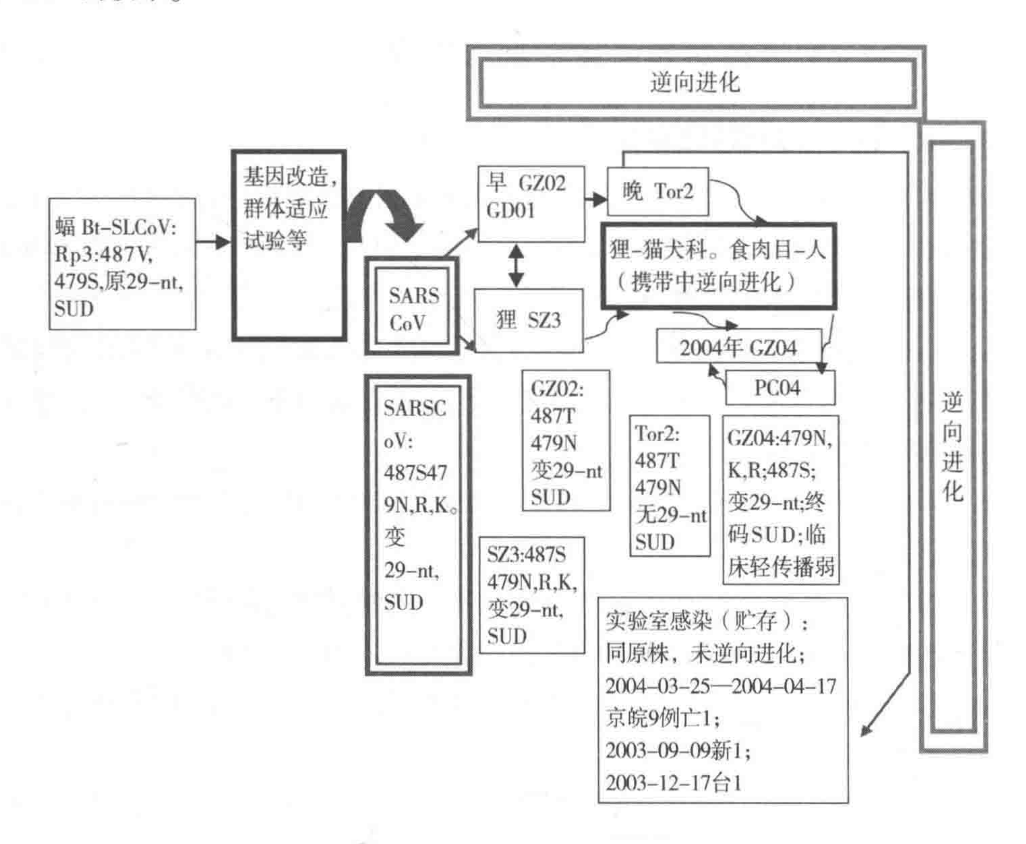


图7-6 "SARS-CoV的起源和进化假设"的框架图

1. 图中框，总体分二层，上层为SARS-CoV的起源和进化流程，下层除"实验室感染"外，为上层框的内容或毒株特性之描述。2. 487、479：SARS-CoV或Bt SL-CoV S1区487，479位AA，数字前或紧随其后的大写英文字母为AA之种类。3. 原29-nt，变29-nt，无29-nt：分别代表Bt SL-CoV或SARS-CoV ORF8特征性29-nt序列：CCAATACATTACTATTCG-GACTGGTTTAT（nt.27866-27894），CCTACTGGTTACCAACC TGAATGGAATAT（nt.27869-27897）和特征性29-nt序列缺

失。4. SUD,终码 SUD:分别代表 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV ORF1a 基因 nsp3 区独特的 CDS 和 nt.6295 突变后出现终止密码子的 SUD。5. SARS-CoV 毒株:早 GZ02 GD01:2002-11—2003-07 流行早期患者的 2 株病毒; 晚 Tor2:2002-11—2003-07 流行晚期患者 1 株病毒;狸 SZ3:2002-11—2003-07 流行早期果子狸 1 株病毒;2004 年 GZ04:2003-12—2004-01 广州爆发患者毒株;PC04:2003-12—2004-01 广州爆发果子狸毒株;在此特别强调说明,在图中,也即 SARS-CoV 的起源和进化过程中,这些毒株应看作为该时期 SARS-CoV 毒株的代表,并非仅是其本身。6. 实验室感染(贮存),首先指 3 起实验室感染及其发生地,时间和例数:2004-03-25—2004-04-17 京皖(北京安徽);2003-09-09 新(新加坡);2003-12-17 台(台湾);紧随其后的数字为例数。

其次,指目前自然界已不存在 SARS-CoV,仅贮存于实验室内。

虽然图 7-6 的个别环节和细节还需补充和修改,但从总体上可以合理地解释如下疑问和事实:

1. 为何 SARS 在 2004 年 2 月后,除实验室感染外,在人群中再无病例发生和流行。

2. 为何至今尚未在自然界中找到 SARS-CoV 的直接祖先和贮存宿主。

3. 为何 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月人群流行之间,SARS 临床和流行病学特点有很大差异。

4. 为何 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发中人和果子狸 SARS-CoV 的亲缘关系,较和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月人群流行早期毒株接近,而非晚期。

5. 为何 SARS-CoV 和宿主受体结合的 S1 区重要 AA 位点之变异、ORF8 29-nt 的变异或缺失以及 SUD 出现终止密码子等。

(孙慧敏　张磊　徐德忠　赵宁宁　徐德忠审)

参考文献

[1] 徐德忠,孙慧敏,谭雅慧.现在自然界和人群中已不存在非典病毒[J].医学争鸣,2013,4(1):22-26.

[2] 徐德忠,张 磊,孙慧敏,等.SARS-CoV 非自然起源[J].医学争鸣,2013,4(4):6-9.

[3] 徐德忠,张景霞,张磊,等.逆向进化:SARS-CoV 非自然起源之关键[J].医学争鸣,2014,5(1):1-6.

[4] Taxonomic proposal to the ICTV Executive Committee "Revision of the family Coronaviridae" 2008, (http://talk.ictvonline.org/media/p/1230.aspx).

[5] 孙慧敏,唐晓凤,王波,等.SARS 病毒和其他冠状病毒中性突变速率初步的比较研究[J].中华疾病控制杂志,2011,15(12):1026-1030.

[6] Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular Evolution of the SARS Coronavirus During the Course of the SARS Epidemic in China[J]. Science,2004,303:1666-1669.

[7] Kan B, Wang M, Jing H, et al. Molecular evolution analysis and geographic investigationof Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus-likevirus in palm civets at an animal market and on farms[J]. J Virol,

2005,79(18):11892-11900.

[8] Wang M,Yan M,Xu H,et al. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet[J]. Emerg Infect Dis, 2005,11(12):1860-1865.

[9] Song H,Tu C,Zhang G,et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(7):2430-2435.

[10] Janies D,Habib F,Alexandrov B,et al. Evolution of genomes,host shifts and the geographic spread of SARS-CoV and related coronaviruses[J]. Cladistics,2008,24(2008):111-130.

[11] Li F,Li W,Farzan M,et al. Structure of SARS coronavirus spikereceptor-binding domain complexed with receptor[J]. Science,2005,309(5742):1864-1868.

[12] Holmes KV. 2005. Structural biology. Adaptation of SARS coronavirus to humans. Science,309(5742): 1822-1823.

[13] Qu X X,Hao P,Song X J,et al. Identification of two critical amino acid residues of the severe acuteres-piratorysyndrome coronavirus spike protein for its variation in zoonotictropism transition via a double substitution strategy[J]. J Biol Chem,2005,280(33):29588-29595

[14] Fang Li. Structural analysis of major species barriers between humans and palm civets for severe acute respiratory syndrome coronavirus infections[J]. J Virol,2008,82(14):6984-6991.

[15] Graham RL, Baric RS. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission[J]. J Virol,2010,84(7):3134-3146.

[16] Wu K,Peng G,Wilken M,et al. Mechanisms of Host Receptor Adaptation by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus[J]. J Biol Chem,2012,287(12):8904-8911.

[17] Li W,Zhang C,Sui J,et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2[J]. EMBO J,2005,24(8):1634-1643.

[18] Teoto'nio H. Rose MR. Perspective:reverse evolution[J]. Evolution,2001,55(4):653-660.

[19] Bull JJ,Charnov EL. On irreversible evolution[J]. Evolution,1985,39(5):1149-1155.

[20] Lythgoe KA,Fraser C. New insights into the evolutionary rate of HIV-1 at the within-host and epidemiological levels[J]. Proc Biol Sci,2012,279(1741):3367-3375.

[21] Matthews PC,Prendergast A,Leslie A,et al. Central role of reverting mutations in HLA associations with human immunodeficiency virus set point[J]. J Virol,2008,82(17):8548-8559.

[22] Snijder EJ,Bredenbeek PJ,Dobbe JC,et al. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus,an early split-off from the coronavirus group 2 lineage[J]. J Mol Biol,2003,331(5):991-1004.

[23] Holmes KV. SARS-associated coronavirus[J]. N Engl J Med,2003,348(20):1948-1951.

[24] QIN E'de,ZHU Qingyu,WANG Jian,et al. A complete sequence and comparative analysis of a SARS-associated virus(Isolate BJ01)[J]. Chin Sci Bull,2003,48(10):941-948.

附　录*

附录一　给《柳叶刀传染病》(*The Lancet Infectious Disease*)杂志投稿过程

目录

* 附录的编著者:苏海霞　李端　唐晓凤　吴秀华　徐德忠

1. 编委会注

从给《柳叶刀》之投稿过程，我们可解读如下几点。

(1)通常此类杂志1~2周即可做出决定，但其却远远超出承诺的4周，滞留在编辑部达3个月差4天；可以推测，此稿可能经多道关口；因为若接受此稿，等于承认SARS-CoV“非自然起源，”即为实验室制造，可能编辑部难以承担。

(2)“侧重于分子生物学”之“理由”合适，但编辑部殊不知，本文的作者团队是流行病学者，对“分子生物学”基本是门外汉。

(3)但杂志还未偏离中性立场，默认“非自然起源”；在此重大问题上，未否定稿件之科学性和可靠性。因此，作者对所获的结果也可承受。

2. 2012年11月3日作者就所投“综述”稿件的概要和意义致编辑信(英文原件、中译文共2件)

(1)英文原件

发件人： XDZ
日期： 2012年11月3日 16:17
收件人： IDeditorial@lancet.com
主题： a review entitled "The origin and evolution process of SARS CoV",

Dear Editor,

I finished a review entitled "The origin and evolution process of SARS CoV", although it is not systematic review of evidence-based medicine specifications with non-search strategy, this is a secondary research review on many of the results of the relevant literature. While all references are from the Lancet, Nature, Science and other authoritative magazines.

From an innovative macroscopicview, we restudied and re-analyzed comparatively and comprehensively the literature and the relevant historical data about SARS, SARS CoV and some zoonotic human infectious diseases. Based on the most unusual epidemic course, characteristics and evolution process of SARS CoV, we state with certainty that SARS CoV experienced a very unusual natural history and have first comprehensively and clearly illuminated the origin and the evolution process of SARS CoV, which are unprecedented and different from any previous human infectious diseases.
Therefore, the results contribute to the prevention and control of existing or emerging zoonotic diseases, beneficial to human health and social development.

I hope the article can be considered in your magazine published.

Sincerely Yours,

Dr. De Zhong Xu
Professor
Director of Clinical epidemiological unit (CEU), FMMU, China CLEN, INCLEN E-mail: xudezh69@163.com

(2)中译文

发件人：徐德忠

日期：2012年11月3日 16:17

收件人:IDeditorial@ lancet. com

主题:综述“SARS CoV 的起源和进化”

尊敬的编辑:

我已完成一篇题为“SARS-CoV 的起源和进化”的综述。尽管这不是以特定检索策略为基础的循证医学之系统综述,但也是基于许多相关研究文献的二次研究综述,其文中所引用的文献均来自 Lancet,Nature,Science 和其他权威杂志。

我们从一个全新的宏观层面,比较全面地重新研究和分析了这些文献,以及有关 SARS、SARS-CoV 和其他动物源性传染病的历史资料。基于十分不寻常的 SARS 流行过程、特征和 SARS-CoV 进化历史,我们认为 SARS-CoV 经历了一个非同寻常的自然史。并首次全面而清晰地阐述了 SARS-CoV 的起源和进化过程,这一过程是史无前例的,与以往任何人类传染病均不相同。因而,本文的研究结果将有助于预防和控制现有的或新出现的动物源性疾病,促进人类健康和社会进步。

我希望这篇文章能够在贵刊发表。

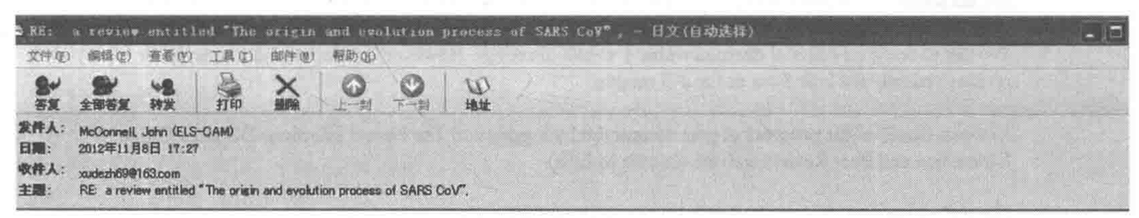
徐德忠教授

中国临床流行病学工作网,第四军医大学临床流行病学中心主任

INCLEN E-mail:xudezh69@ 163. com

3. 2012 年 11 月 8 日编辑部 John McConnell 编辑同意作者正式投稿的回信(英文原件、中译文共 2 件)

(1)英文原件



RE: a review entitled "The origin and evolution process of SARS CoV", - 日文(自动选择)

文件(F) 编辑(E) 查看(V) 工具(T) 邮件(M) 帮助(H)

答复 全部答复 转发 打印 删除 上一封 下一封 地址

发件人: McConnell, John (ELS-CAM)

日期: 2012年11月8日 17:27

收件人: xudezh69@163.com

主题: RE: a review entitled "The origin and evolution process of SARS CoV".

Dear Professor Xu

Thank you for the review proposal. Please do submit the manuscript so that we can make a decision on suitability based on consideration of the full paper.

At this stage, I cannot guarantee peer review or publication.

Best wishes

John McConnell FRCPE
Editor
The Lancet Infectious Diseases
32 Jamestown Road, London NW1 7BY, UK
tel +44 (0)20 7424 4959, mobile +44 (0)7810 457123, fax +44 (0)20 7424 4557/4911
email john.mcconnell@lancet.com
website http://www.thelancet.com/infection

Impact Factor 17·391 – First in Clinical Infectious Diseases

The Lancet Infectious Diseases is now considering Original Research, offering a fast-track peer review service.

(2)中译文

发件人:McConnell,John (ELS-CAM)

日期:2012年11月8日 17:27

收件人:xudezh69@163. com

主题:回复:综述"SARS CoV 的起源和进化"

尊敬的徐教授:

感谢您提交的综述概要。请在网上正式投稿,以便我们能对您的论文全文做出恰当的决定。

目前,我还不能保证您的论文能够被同行评阅或发表。

预祝顺利!

JohnMcConnell FRCPE

Lancet Infectious Diseases 编辑

4. 2012年11月18日编辑部收到正式稿后、承诺将在4周内做出编辑部决定的来信(英文原件、中译文共2件)

(1)英文原件

发件人: The Lancet ID Peer Review Team
日期: 2012年11月18日 6:44
收件人: xudezh69@163.com
主题: Your Submission to The Lancet Infectious Diseases has Been Received

Dear Pro. Xu,

Your submission entitled "The origin and evolution process of SARS CoV" has been received by the journal office.

We aim to reach an editorial decision within 4 weeks of receipt. However, for papers that require peer review, you may not hear from us for 2-3 months.

You can check on the progress of your manuscript by logging into The Lancet Infectious Diseases Online Submission and Peer Review website (known as EES).

The website address is: http://ees.elsevier.com/thelancetid/

Your account details are:
Your username is: xudezhong
Your password is: xu5758

After you have entered your Username and Password, remember to click the 'Author' button.

Your manuscript will be assigned to an editor shortly and you will then be emailed a manuscript reference number.

Thank you for submitting your work to us.

Best Wishes,

The Lancet Infectious Diseases

(2)中译文

发件人:The Lancet

日期:2012年11月18日6:44

收件人:xudezh69@163.com

主题:Lancet Infectious Diseases 已收到您的投稿论文

尊敬的徐教授:

Lancet 杂志编辑部已收到您的投稿论文“SARS-CoV 的起源和进化”。

我们将在4周内做出编辑部的决定。然而,若论文需进入同行评议之程序,则您可能又需等2~3个月。

您可以登录 Lancet 在线投稿和同行评议网页,查阅稿件评阅的进度。

网页地址:http://ees.elsevier.com/thelancetid/

您的账户信息:

用户名:xudezhong

密码:xu5758

输入您的用户名和密码之后,点击“Author”按钮进行查阅。

我们将会尽快给您的投稿论文指定一位编辑,您将会收到一个投稿论文编号。

感谢您的投稿。预祝顺利!

Lancet Infectious Diseases 杂志社

5. 2012年11月19日编辑部收稿后第二天来信,表示若同意后很快进入同行评审,要求尽速准备6类文件(英文原件、中译文共2件)

(1)英文原件

发件人: The Lancet ID Peer Review Team
日期: 2012年11月19日 20:33
收件人: xudezh69@163.com
主题: Reference Number For Your Submission to The Lancet Infectious Diseases

Dear Pro. Xu,

Your submission has been assigned to an editor and now has the following manuscript reference number: THELANCETID-D-12-01065.

Please quote this number in any correspondence you have with us as it will enable us to efficiently handle any queries you may have.

As your manuscript passes through the selection process you will be able to view its progress by visiting the The Lancet Infectious Diseases Online Submission and Peer Review website (EES) at http://ees.elsevier.com/thelancetid/.

Should your paper be selected for further consideration, we will then ask you to send signed copies of the following statements:

* Covering letter
* Conflicts of interest
* Patient consent and permission to publish (if relevant)
* Acknowledgments
* Personal communications
* Permission statements from publishers for use of copyright-protected material

To minimise delays, we strongly advise that you now prepare the signed copies of these statements.

Thank you for submitting your work to us.

Best Wishes,

The Lancet Infectious Diseases

(2)中译文

发件人:The Lancet

收件人:xudezh69@163.com

主题:提交论文的编号

尊敬的徐教授:

您提交的论文已由一名编辑负责处理,论文编号为:THELANCETID-D-12-01065.

为了我们可以更为有效地处理您的任何查询,请在和我们通信时使用这个编号。

在您的论文被选择过程中,您可以通过访问《柳叶刀传染性疾病》杂志在线投稿与审稿网站(EES) http://ees.elsevier.com/thelancetid/,查看进度。

如果需要进一步评阅您的论文,我们将会要求您提交下列文件的签字复印件:

★ 介绍信

★ 利益冲突证明

★ 患者的同意和发表许可证明(如果相关)

★ 致谢词

★ 个人通信

★ 出版商使用的版权保护许可声明

为了减少延误,我们强烈建议您现在即准备这些文件。

感谢您向我们提交论文。

祝福!

Lancet Infectious Diseases 杂志社

6. 承诺4周却滞留在编辑部3个月差4天,副主编 Peter Hayward 因稿“侧重于分子生物学”未入同行评审之2013年2月14日致歉信(英文原件、中译文共2件)

(1)英文原件

发件人: The Lancet ID Peer Review Team
日期: 2013年2月14日 1:56
收件人: xudezh69@163.com; xudezh@fmmu.edu.cn
主题: Your submission to The Lancet Infectious Diseases

Manuscript reference number: THELANCETID-D-12-01065
Title: The origin and evolution process of SARS CoV

Dear Prof. Xu,

Thank you for submitting your manuscript to The Lancet Infectious Diseases. Please accept my apologies for the delay in providing you with a decision on your paper, a high number of submissions to the Personal View category, office closures, and staff absences have created a bit of a backlog. The journal's editors have discussed the manuscript, and our decision is that it would be better placed elsewhere. Although you discussed submission with my colleague John McConnell, as he stated, we cannot guarantee peer-review. On seeing you complete submission, we feel that your paper is rather heavy on the molecular biology content for our clinical audience. We currently receive far more submissions than we have space to publish and therefore have to reject many otherwise worthy papers.

We are sorry we cannot be more helpful on this occasion, and we hope you will think of us again in the future.

Best wishes
Yours sincerely,

Peter Hayward
Deputy Editor
The Lancet Infectious Diseases

(2)中译文

发件人:The Lancet

日期:2013年2月14日1:56

收件人:xudezh69@163.com

主题:关于您给*Lancet Infectious Diseases*的投稿论文

投稿论文编号:THELANCETID-D-12-01065

论文题目:SARS-CoV的起源和进化

尊敬的徐教授:

感谢您给*Lancet Infectious Diseases*杂志投稿。由于投稿论文非常多,杂志社人员短缺等原因造成稿件积压,抱歉直到现在才通知您编辑部的决定,请接受我们的歉意。本杂志社编辑们讨论后认为,这篇论文更适合刊登在其他杂志。虽然您已经和我的同事John McConnell讨论过,但正如他所说,我们不能保证论文进入同行评议。阅读完您的整篇论文,我们认为对于本杂志的临床读者,您的论文内容更多地侧重于分子生物学。目前,我们收到了大量投稿的论文,远远超出杂志的版面,因此不得不拒绝很多其他有价值的论文。

非常抱歉这次不能给您更多的帮助,希望将来您能再次给本杂志投稿。

预祝顺利!

Peter Hayward

The Lancet Infectious Diseases 副主编

附录二　和某国际组织总干事的来往信件

目录

一、编委会注

1. 为揭示非典及其病毒的真实起源，为防止此类病毒再次发生和维护人类健康，徐德忠教授2013年4月30日给总干事写信，并附上一篇学术报告“SARS-CoV逆向进化及其非自然起源之研究”。在将此件收入本书时，删去有关官员的姓名，对一种蝠的名称按目前文献的更正做了改动，少数文字有增减。

2. 虽然学术报告“SARS-CoV逆向进化及其非自然起源之研究”和本书正文内容在多处有重叠，但所处角度不同：后者为解释该章节的主题或理论利用前者的某些例子，而前者则是从流行病学、临床医学、分子病毒学和分子系统发育学等方面创新地、全面地、系统地、历史地、比较地、综合地阐明和论证了“SARS-CoV经历的逆向进化及其非自然起源”！

3. 从助理总干事的回信中，可解读如下2点：

(1)该组织赞同或默认了徐德忠教授的观点；实际上，最近我们发现他们前几年的一文件内，已将非典和恐怖主义并列在一起(见本书正文前的“文件和讲话摘录”和有关章节)。

(2)以“应对中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)”(至今，国际上的研究结果已经初步揭示了其起源，和非典完全不同)为由，回答或回避了徐德忠教授的建议；这也在意料之中。

二、徐德忠教授2013年4月30日给总干事的第一封信

总干事阁下：您好。恕我冒昧地给您写信。

2003年抗击非典时，您的勇气和认真给我留下了深刻的印象；我当时正在卫生部进行SARS疫情分析，和当时您的属下在北京做过交流；也在央视新闻专题、焦点访谈和新闻联播中做过多次节目，故我们彼此可能在影视上已见过面，唯我仅是位普通学者，可能您已没有印象。

后来，您不负各国政府和人民的众望，担任第一位华人总干事，肩负保障全人类健康的重任，可喜可贺。在此岗位，您不仅可以将中华民族的聪明才智奉献给全世界，也使我国和各国人民的友谊更加牢固，为提高我国的地位起到无法替代的作用。为此，向您致以崇高的敬意。

2003年自京回校后，我一直关注SARS。但由于前几年身体情况，未有精力。2年前开始收集有关文献，且大部分为权威杂志的；继后又大量阅读和我思路相关的资料；并每时每刻，包括走路、吃饭甚至做梦，均思考：SARS-CoV之起源？为何多年在世界上未发现其贮存宿主？为何2004年1月后除实验感染外再无病例？

功夫不负苦心人，现在已拥有许多可靠研究证据，在流行病学、临床特征、分子病毒学和分子进化诸方面均指向一个方向：SARS-CoV经历了非自然进化，除实验室外，现在自然界和人类中已无SARS-CoV。很有趣的是，这些研究证据均来自已发表的权威杂志论文；唯这些作者未从宏观或仅一个方向思考问题，故讨论结果时，以"不好解释"或"尚待深入研究"结尾；而我却从相反方向，从全新视角综合分析各位学者的结果，终于可在学术上至少得出如下结论：

1. 目前世界上除实验室外，已不存在SARS-CoV，包括自然界和人类。

2. SARS-CoV经历了非自然进化，很可能是由某蝠SARS样冠状病毒非自然进化所致，尤其是BtSL-CoV Rp3；很可能是经许多次(代)非自然进化步骤。

3. SARS-CoV由非自然方式进入人类亲近的小哺乳动物和人群。

4. SARS-CoV在动物和人群中流行时，由于其非自然方式产生之本质，不能适应突然进入的新宿主环境(若自然进化需经十数年、几十年甚至更长的时间，但Bt SL-CoV Rp3至SARS-CoV才4.5年，是病毒自然进化之一瞬间)，故SARS-CoV仅能经"逆向进化"降低毒力和传播力，最后离开人群而消失。

我已写成一个学术中文研究报告，包括正文、图表、95条(其中90条为英文)文献索引，共1.7万字，字符约4万，题目为"SARS-CoV逆向进化及其非自然起源之研究"。自认为，这不仅是人类传染病流行病学史上的一个突破，更重要的是此事和各国国家安全与人类健康息息相关。因事关重大，后续工作必须由国际组织出面才能解决问题；故附上，请您指正和处理。我想，在新发传染性疾病，尤其如SARS样新人兽共患病不断出现之时，值SARS爆发10周年、为所受的巨大损害沉痛、为防控献身的英雄(包括WHO官员、科学家Dr. Carlo Urbani)和病故者悼念之际，作为世界人类健康的舵手，您和您领导下的国际组织必定能从大局出发，将此事列入工作日程。

阅读拙文，尤其是实施我的建议，将花费您和同仁们的许多时间和精力；但由此，可以挽救千万民众生命，可以节省无数财富，可以开创防控传染性疾病的新纪元！人类将永远铭记您们的丰功伟绩，您们的名字将镌刻在世界历史的里程碑上！

当然，上述已提及，附件"SARS-CoV逆向进化及其非自然起源之研究"，为个人的学术研究报告。因此，本人应享有版权保护，故引用或转载此文内容，应经本人同意。

为了确保您能亲自收到和阅读此信，故一式两份：一份由我直接从西安寄出；另一封，请我母校(北京医科大学)的老师——某某教授发出；两份的信和论文首页均有我中文和英文之蓝色的亲笔签名，以示郑重。顺颂

大安

徐德忠 2013-4-30　　E-mail：xudezh69@163.com

三、徐德忠教授给总干事第一封信的附件——学术报告"SARS-CoV 逆向进化及其非自然起源之研究(含正式建议)"

SARS-CoV 逆向进化及其非自然起源之研究

西安第四军医大学流行病学教研室

(Department of Epidemiology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China.)

国际临床流行病学工作网,FMMU 临床流行病学中心(CEU)

(Clinical Epidemiological Unit, International Clinical Epidemiological Network, Xi'an 710032, China.)

徐德忠(Xu, D. Z.)

SARS(severe acute respiratory syndrome,严重急性呼吸综合征),2002 年 11 月在中国内地开始流行,首例于 11 月 16 日发生在广东省佛山(Foshan)市,随即传至省会广州市及其西南地区[1],继之香港和北京等地;同时波及我国台湾、东南亚和加拿大、美国等地区和国家,其危害十分严重。World Health Organization(WHO)报告,截至 2003 年 7 月 31 日,全球共发生 8098 例,死亡 774 例,涉及 29 个国家和地区;其中我国内地 5327 例,死亡 349 例[2]。

SARS 爆发,至今已近 10 年。虽然,广大医学研究人员进行了广泛深入的探索,但其起源和贮存宿主仍是个谜。早在 2003 年 4 月 16 日,WHO 即宣布,SARS 的病原体为 SARS 冠状病毒(SARS-CoV)[3~8];随即,学者迅速对其生物学特点和宿主的相互作用以及传染源进行研究[1,3~18]。首先,在野生动物市场上果子狸[Himalayan palm civet(P. larvata)]中,分离到和 SARS-CoV 同源性达 99.8% 的病毒[10],貉(raccoon dog)等小动物中也分离到 SARS-CoV 相关病毒或发现存在其受染的生物标志;认为果子狸在 SARS-CoV 适应于人并在人群流行过程起到重要作用;然而,很快发现,果子狸并非 SARS-CoV 的贮存宿主(reservoir),因为:①分离到 SARS-CoV 的果子狸仅来自发病城市的野生动物市场,而从外省区饲养场,甚至供应分离该病毒野生动物市场的外省饲养场或发病城市的周边市县饲养场的果子狸中,均未发现 SARS-CoV 及其标志物。②果子狸受染后有明显的临床症状[10~18]。在此,我们有必要再加一条理由,即③在 SARS 流行前,果子狸的饲养、买卖和食用已 10 年以上[14],但直至流行,未见任何类似情况。由于前 2 条为种群与地区分布以及临床特点,而从流行病学角度分析和判断传染病的贮存宿主,时间分布也是重要依据;当然,若将时间和地区分布结合

考虑,更有意义,即考虑和分析为何在这些特定地区、特定时间发生果子狸的感染,可对SARS-CoV贮存宿主和SARS流行原因的研究有重要价值。

此后,SARS-CoV贮存宿主的研究目光,聚焦于蝙蝠[19~30]。国际上大多学者认为,其祖先为一种蝙蝠冠状病毒,但直接祖先仍未找到。应用生物信息学和系统发育学方法,有些学者,尤其我国香港学者提出了独特见解。Hon,C. C.,等认为,R. *sinicus* 蝠的SARS样冠状病毒(Bt SL-CoV)Rp3(DQ71615)株,为人和狸SARS-CoV的共同祖先,但尚不是直接祖先;且发现,蝠Bt SL-CoV至狸SARS-CoV的最近共同祖先时间(The time of the most recent common ancestor,tMRCA)为4.08年(1.45~8.84年),即Bt SL-CoV Rp3株和人与狸SARS-CoV之间的进化间隔时间仅有4.08年,Bt SL-CoV Rp3株出现约在1998年8月;而人和狸SARS-CoV的tMRCA在2002年9月(2002年1~12月)。故SARS-CoV的产生约在2002年9月,其直接祖先应在1998年8月至2002年9月产生;但目前尚未找到,仍深藏于某种蝙蝠,需积极寻找[20,25]。故我们通俗地比喻:现已发现了SARS-CoV的曾祖父,但祖父和父亲仍未露面。在此,我们暂称其曾祖父Bt SL-CoV Rp3株为SARS-CoV的亲代3;亲代1,2尚需寻求。

2008年,为适应SARS-CoV研究的发展,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses,ICTV)执委会(the ICTV Executive Committee)提出"冠状病毒科修正案"[Taxonomic proposal to the ICTV Executive Committee "Revision of the family Coronaviridae" 2008,(http://talk.ictvonline.org/media/p/1230.aspx)],将SARS-CoV正式命名为"严重急性呼吸综合征相关冠状病毒(Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus,SARS-rCoV"种的"人SARS-CoV(SARS-HCoV或SARS-CoV)",种内尚包括"蝠SARS-CoV(SARS-Rh-BatCoV)";属于巢状病毒目(order:*Nidovirales*)、冠状病毒科(family:*Coronaviridae*)、冠状病毒亚科(Subfamily:*Coronavirinae*)、β冠状病毒属(Genus:*Betacoronavirus*)中β冠状病毒属1(*Betacoronavirus* 1)。但为和以往的文献一致,故本文将人-狸SARS-CoV和蝠SARS-CoV,仍分别延用SARS-CoV和Bt SL-CoV。

关于SARS-CoV的病毒变异和跨种进化,虽然对其基因组和/或其主要基因ORF1a,ORF1b,S,E,M和N,尤其是S基因及其编码的和宿主受体-血管紧张素转换酶2(angiotensin-converting enzyme 2, ACE2)结合的多个氨基酸(AA),进行了广泛的分子生物学、病毒学、分子流行病学和系统发育学研究,发现一些规律和变异热点,但学者们认为,尚有许多变异进程不能解释,需进一步深入探讨[1,3,5,6,8~13,18,20,21,23~26,31~40]。

可见,迄今绝大部分研究者的结论是,SARS-CoV的直接祖先还需遍地、全面、仔细地搜索各种各类蝙蝠;SARS-CoV从动物宿主到人类的跨种适应性进化有待进一步的实验研究。然而,我们却发现,虽然广大学者做了大量的工作,取得许多成果,但研究者的研究方向均遵循着常规思路,未考虑SARS流行和SARS-CoV产生的突然性和特殊性;可能由于从事工作

的绝大多数学者来自分子生物学、生态学、病毒学、微生物学、生物信息学和系统发育学等领域,虽也曾进行流行病学甚至分子流行病学研究[1,12,16,17],然尚未完全从宏观的视角,对SARS流行的自然史进行深入比较研究,从而发现SARS流行的非常独特之处。因此,本文以宏观创新的视角,从另一个截然不同的方向,研究和综合分析已有工作,发现SARS-CoV存在逆向进化,其起源很可能为非完全动物源性,由此揭开SARS起源之谜!

(一)SARS流行自然史的反常和目前人类与自然界中是否存在SARS-CoV之争

早于2005年2月20日,美国一位长期从事冠状病毒研究的微生物学专家凯瑟琳·霍姆斯(Kathryn V. Holmes),在美国科学促进会(AAAS)年会上说,世界不可能面临如2年前一种突发的SARS爆发;在人间已经发生的这种病毒株,可能仅存在实验标本内[41]。但她又补充2句:有可能,这种病毒在某种动物宿主内,发生一种有害事件或新突变而使其再现。即使发生此类情况,它可能被很快地控制。凯瑟琳·霍姆斯教授的讲话一发表,在媒体上掀起了轩然大波,我国有多位学者提出反对意见[42,43]。

欲回答"目前人类与自然界中是否存在SARS-CoV"这一问题,确实十分困难。以至,凯瑟琳·霍姆斯本人在当年稍后"科学(Science)"杂志正式发表的文章中语气更加缓和,称:从2003年7月以来,全面的监测尚未在人和动物中发现2002—2003年的流行毒株,但在果子狸和其他动物中还可能仍有SARS-CoV循环,引起散发和轻型患者,并引用记述2003—2004年广州爆发的2篇文献[32]。这反映了此领域中这位国际权威专家的谨慎和留有余地的良好科学风尚。

然而,我们若重新细致审视SARS流行的整个过程,同时重新细致审视对SARS流行规律及其起源的整个研究过程;也即重新研究、分析前一个过程的数据资料并进行前后和历史性比较,重新考虑、分析后一个过程的研究思路、方向和方法及其发现或结论,并做全方位多角度的比较;然后再回答"目前人类与自然界中是否存在SARS-CoV"这一问题,将容易得多。

无可否认,SARS流行的突发性,迅速广泛的传播性,存在许多超级传播者,众多医务人员受累,相当高的病死率和突然消失等特殊性均出乎大众和医学研究者意料之外。迄今,结合SARS的整个流行过程特点和研究历程,我们可断言:和人类传染病流行自然史比较,SARS流行的自然史呈现许多反常现象;其研究进程呈异常曲折,其发现和结论也非同寻常。

1. SARS流行在人间的终止和突然消失:我国在2003年4月中旬至5月初,每天SARS发病数达100例以上,但至6月3日后即再无报告[44];当年7月后,除2003年12月中旬至次年1月初广州爆发4例轻型病例和3起实验室感染外,近10年世上再未见。这在人类传染病流行史上,绝无仅有。

早在我国 SARS 流行刚结束时,2003 年 7 月 28 日胡锦涛主席明确指出:“人类传染病史告诉我们,任何重大的传染病,都不会在一次发作后就销声匿迹”[45],这实际上也代表了我国流行病学和卫生防疫专家对人类传染病流行史的认识和总结。但 SARS 流行未遵循此规律。

在人类发展史上,仅消灭了一种传染病——天花。尚未发现其他任何一种传染病出现后即消失了。而消灭天花的过程是一场有组织有计划有步骤的国际卫生运动;消灭天花是经 WHO 精心组织全面协调和积极努力、各国政府和医务卫生人员勤奋工作 20 年之成果,于 1980 年由 WHO 正式向全世界宣告[46]。

和 SARS 不同,艾滋病(获得性免疫缺陷综合征,acquired immunodeficiency syndrome,AIDS),多型病毒性肝炎,2009 年出现的甲型流感[Influenza A(H1N1)]等新发传染病至今仍在世界上广泛地、不断地发生和流行。而且,同为 RNA 病毒,同是动物源性、已经判定蝠为其贮存宿主、20 世纪末发现的亨尼帕病毒属(genus Henipavirus)的亨德拉病毒(Hendra virus,HV)和尼巴病毒(Nipah virus,NV),由其引起的疾病爆发,自分别在澳大利亚和马来西亚、新加坡出现以来,在当地或其他一些国家动物和人群中不时散发或流行[47~52],至今不息。相比之下,不能不说,SARS 的流行自然史与众不同,有其独特之处,也可认为其有违传统或新发传染病流行的普遍规律。

2. SARS 的流行特征和临床表现的进程相当异常:我们复习 2002—2004 年 SARS 的流行过程,可以发现诸多特别之处:①大多学者认为,且有实验证据提示,SARS-CoV 不可能由人传至果子狸;故应是由果子狸传至人,而在流行起始地广东最初几处小爆发的 7 位指示病例中,仅 2 位有明确的动物接触史(animal contact history)(详情见下)[17]。②广东省虽是流行起始地,但流行地区分布很耐人寻味:开始仅发生在广州市南面和西面,以后主要集中在广州,而北面和东面始终未见流行;但广州市四周各种自然生态和社会环境均相似[1,17]。因此,有些流行病学学者也发出强烈的疑问[14,17]。③按 SARS 流行的进程,2002—2003 年分 3 个阶段[1]。总体而言,早期流行比较缓和,但进入中晚期却十分猛烈:速度快,人数多,病情重,还出现许多超级传播者;到 6、7 月却戛然而止;而 2003 年年底至次年初又有广州 4 例散发,竟无继发。此种进程,奇特之处:开始平缓,中后期剧烈,突然终止;存在众多超级传播;终止后半年又有散发,但无续发,此后即无踪影。④SARS 临床变化,和流行进程很相似:初起尚可,进入中期后病情凶猛,病死率高;2003 年年底至次年的 4 例症状很轻,均痊愈。此也和一次传染病流行中临床表现过程不相同[1,12,17,18]。⑤我国 2004 年 3 月 25 至 4 月末发生一起实验室感染引起的 SARS 爆发,在北京和安徽共确诊 9 例患者,死亡 1 例;也有续发:护理首例患者的一位护士传播 5 例。可见其临床和流行病学表现和广州小爆发有别,却和 2002—2003 年流行的一致。其分离的病毒和贮存于实验室内 2003 年上半年流行毒株的特性相同[53,54]。提示,虽然 2004 年初人群中 SARS 病例的临床和流行病学特征已有变化,且

在果子狸和人群中 SARS-CoV 的基因已有“逆向进化”(见后),而仅隔数月的实验室感染病例各种特性依旧!可见,人群中继续流行的 SARS-CoV 才发生“逆向进化”,也即主要的“逆向进化”发生在人群流行的晚期与末期;和贮存于实验室的比较,更证明 SARS-CoV 的进化破天荒!⑥SARS 发病的国家分布也有特别:除我国外,在东亚以新加坡和越南居多;同是北美:加拿大为美国的8.7(251/29)倍[2]。除输入病例的迟早和各国条件差异外,似尚有不同于通常传染病流行的其他因素起作用。

传染病的流行过程,是由传染源(携带并传播病原体的人和动物)、传播途径和易感人群 3 个环节在 2 个(社会和自然环境)因素影响下形成。因此,上述异常和此 3 环节与 2 因素有关:2 因素在各国虽有不同,但难以解释这些差异;SARS 传播途径虽有特点,但无大碍;人群虽均普遍易感,但种族可影响遗传易感性,还需注意和研究,然而也不足以解释上述所有异常;故剩下的第一环节,即传染源及其携带的 SARS-CoV 应和这些异常密切相关。

3. SARS-CoV 的贮存宿主和起源至今未搞清楚:自 2003 年 4 月 SARS-CoV 确定为 SARS 的病原体后,对其起源和贮存宿主以及跨种的适应性变化,国际上进行了十分广泛和细致的探索和研究。对其可能的贮存宿主蝙蝠,不仅在几个洲进行研究,在我国大陆、香港以及某些东南亚国家,更是广泛又密集、接近地毯式的搜寻,然而近 10 年,在高科技的今天仍然未找见携带 SARS-CoV 的蝙蝠,未发现其直接祖先[21,24,25,27~30]。因此,人们不禁发问:SARS-CoV 的直接祖先在自然界中存在吗?

和 SARS-CoV 的贮存宿主和起源研究情况完全相反,上述的亨德拉病毒和尼巴病毒,自 20 世纪 90 年代中后期发现后,不仅跟踪监测其在大洋洲和东南亚一些国家的流行状况与特点,且已经判定其贮存宿主为不同种类的果蝠(*fruit-eating bats*, *Pteropus spp. Bats*;又称飞狐 *flying foxes*),并发现其可经受染的家畜传播,甚至可发生人-人传播[47,49,52]。

AIDS 自 1981 年美国发现之后,很快在世界各地广泛传播;虽然其病原体(HIV)1983 即分离到,但对 HIV-1 的变异特点、亚型及其分布、流行过程、动物到人的适应性变化及其多次侵入人群之过程、起源和贮存宿主等研究的突破,主要在近 10 多年[55,66]。目前,HIV-1 主要有 3 个群(Group):M、N 和 O 群;M 群在世界各地广泛流行,N 和 O 群仅在非洲喀麦隆(Cameroon)及其周边国家流行;HIV-1M 群有 13 个亚型(subtype)A1,A2,A3,A4,B,C,D,F1,F2,G,H,J,and K,其中以 C 型感染比例最高,可达48%,其次为 A、B[55,57,63,66];最近可能又新出现 1 个 P 型[65,68]。除亚型外,HIV-1M 群尚有 53 个循环重组型(circulating recombinant forms,CRFs);另又有独特重组型(unique recombinant forms,URFs)[55,60,62,63,67]。其原因主要是 HIV-1 变异和重组率非常高:HIV 每个病毒的复制率约达 10^{10}/天;而每个受染患者每天可产生达数百万(millions)变异株[55]。可能还有个重要因素:和 HIV 的起源相关,其源病毒为猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus,SIV),非洲有 40 多种猴受染或携带

SIVs;自然界 SIVs 在其宿主内进化速度相当快,犹如人群中 HIV[57,60,68]。目前分离的最早HIV-1 有两株,分别从非洲 1959 年和 1960 年的患者标本中所获[60,61,67]。然而,从非人灵长类侵入人类的时间早得多,途径复杂得多。HIV-1 的贮存宿主为黑猩猩(chimpanzees),其祖先为非洲中部或中西部黑猩猩(Pan troglodytes troglodytes)携带的 SIV(SIVcpz);经分子钟(molecular clock)技术研究发现,SIVcpz 的 tMRCA 为 1492(1266—1685)年;HIV-1 至少经3 次各自独立跨种途径由黑猩猩传入人群,其中,也可能有 1~2 种经大猩猩(Gorilla gorilla)传至;而 HIV-1 各群 tMRCA 也各不相同:M、N 和 O 群分别为 1921 年(1908-1933),1963 年(1948-1977)和 1920 年(1890-1940)[60,61,67]。可见,HIV-1 的起源十分曲折、十分久远;同时反映,如此复杂的进程经最近研究已基本搞清。

可能和 SRAS 流行更加类似的,应为 2009 年新发生的新甲型流感(H1N1)病毒(猪源流感病毒,S-OIV)导致的全球流行。在此,将两者起源的研究进行比较。2009 年 4 月,在墨西哥和美国等国家出现一种新型猪源甲型流感,4 月 25 日,WHO 宣布国际关注;4 月 29 日,WHO 认为这种甲型流感病毒(H1N1)在世界范围内快速传播,故将流行警报级别提高至第五级[69]。估计墨西哥当时已有约 23 000 人感染,病死率约 0.4%,与 1957 年的疫情相似[70]。美国 CDC 于 4 月 15 日和 4 月 17 日,分别从 2 例流行病学无关联患者体内分离到同一种病毒,确定为新的猪源甲型流感(H1N1)病毒,并且进一步分析发现,其由 8 种基因组成,来源较复杂,但主要来自 4 种谱系:北美经典猪型,北美禽类,季节性 H3N2 和欧亚猪型,且和北美流行的三重配体猪型 H1N1 病毒(triple-reassortant swine influenza viruse)尤其接近[71]。可见,如此突然引起全球流行的病毒,虽起源复杂,但在 2 个月内却研究得如此清楚。

将 SRAS 和上述这些相似的新发传染病流行史和研究过程相比较,人们不难发现,SARS-CoV的起源和贮存宿主未确定,绝非研究者不努力,绝非研究的方法不先进,绝非研究的广度和深度不够,而是未从相反方向考虑:即在自然界根本不存在 SARS-CoV 的贮存宿主;存在的仅是 Bt SL-CoV 的贮存宿主。不存在贮存宿主,当然 SARS-CoV 即无生存之地。因此,SARS-CoV 仅仅是人类历史上的匆匆过客。故我们将 SARS-CoV 谓之“过客病毒(passenger virus)”。

所以,还是凯瑟琳·霍姆斯博士高瞻远瞩,在 SRAS 流行后 2 年,于美国科学促进会(AAAS)年会上说的“在人间已经发生的这种病毒株,可能仅存在实验标本内”这句话是事实[41]的,是基于她和传染病长期斗争之经验与科学家敏锐之眼光。至于后来补充和论文中的字句[32],是为留有余地和谨慎的科学态度之反映;因为她虽不是流行病学家,但她作为国际微生物学界的权威,心里明白:2003 年年底至 2004 年初出现 4 名轻型又无继发的病例后,呼吸道传染病多发的 2004—2005 年冬春季再无发病,人群和自然界是否存在传染源值得质疑。

那么,为什么自然界根本不存在 SARS-CoV 的贮存宿主;为什么现在自然界和人群已不

存在 SARS-CoV,其仅存在于实验室内？欲探讨其原因,则应先叙述本文题目中表明的:SARS-CoV 存在逆向进化(reverse evolution)。

(二)SARS-CoV 的系统发育中存在逆向进化

我们在研究 SARS-CoV 系统发育及其和流行之关系时,发现 SARS-CoV 的进化历程有非常特别之处,似生物学上“返祖”的现象。考虑到,“返祖”学术涵盖面很广;在基因的系统发育学上,应给予新的术语,暂称之为“逆向进化”。进一步查阅发现,早有学者提出“逆向进化”,并定义为“再取得祖先状态”(Teoto′nio,H,2001)或更具体些为“相同特征的分枝群体,经包括适应在内的方式,再获得祖先群体的特征”(Bull,J. J,1985)[72~74]。

事实上,逆向进化在生物界、生物进化中随处可见,仅是除少数涉及人类健康或生活的事件外,不易引起人们甚至科学家的注意。如细菌、病毒和昆虫抗药性基因的改变和进化;微生物和原生动物甚至更高级动物抵抗各种恶劣外环境发生的基因逆向进化;各种动物甚至人类受到外环境超强物理或有害化学物质影响后,受损基因在突变、修复和重组等过程中,也存在逆向进化[72~77]。

然而,由于条件受限等因素,目前在文献中多见的是对逆向进化的实验研究,尤其是对微生物、原生动物和昆虫的研究[74~77]。但和人类生存环境密切相关的生物逆向进化也有进行长期广泛研究的经典实例:19 世纪下半叶开始的欧美工业化所致空气污染及其此后的治理引起之胡椒蛾桦尺蠖(peppered moth,Bistonbetularia),由淡色变黑又逐渐变回的逆向进化[78~82]。

我们可以认为,逆向进化和顺向进化(forward evolution)共同形成了生物的进化,即生物进化过程既包括顺向进化,也包括逆向进化。若仅有顺向进化,生物进化不可能继续,可能所有生物均将灭种:因为地球和宇宙的环境十分复杂多变,加之人类社会之出现,对不同生物不时产生或大或小甚至灭顶之灾,生物必须进行包括逆向进化在内的改变,才得以生存。哲学的主要观点之一:世间任一事物均是运动、变化和发展着的对立统一体。中医学的精髓为阴阳五行;阴阳学说认为,物质世界包括人类均是阴阳二气的相互作用下发展和变化,二者既相互对立又相互统一,而人体的健康和疾病、人群中发病和流行无不与之相关[83]。可见,逆向进化不仅在自然界可见,在实验室进行研究,而且也符合哲学和医学理论。遗憾的是,目前国际上似尚未将“逆向进化”理论用于人类疾病的发病和防控研究。

很有意思,我们发现在 HIV-1 进化的自然史中,也存在逆向进化的现象。虽然研究者未直接用“reversion evolution”,但在表述 HIV-1 进化研究结果时,选择了“retrieve”,“revert”,甚至“evolves toward ancestral states”,“frequent reversion”等这些词或句。可能是作者认为其尚未达到“reversion evolution”之程度,或作者尚未意识到。因为,学者们发现,在

HIV-1受染者体内很多情况下有病毒株的突变或变异趋向"ancestral states"或"ancestral sequence"甚至"ancestral strain"[58,59,84~86]。Lythgoe KA(2012)研究结果显示,和宿主内进化率相比,HIV-1 在宿主间(流行)的进化率非常明显的减速,约减 2×至 6×,其原因有 3 种机制,而主要和 HIV-1 在受染者体内"store and retrieve"有关:携带整合原病毒的 CD_4^+ T 细胞进入休眠期;这些隐伏的细胞可有效地贮存病毒,成为病毒库,数月甚至数年后复活,重新复制;并趋向回复(retrieved);且贮存病毒中祖先型病毒将被优先传播[58]。因此,"store and retrieve"机制,有以祖先病毒传播和/或侵入的优势。Herbeck JT(2006)纵向追踪还发现,患者受染2 ~3 年 HIV-1 的进化,均朝向感染时的共同祖先,反映其感染新宿主时,回复了某些祖先特性[85]。学者们还指出,此类回复现象和 HIV-1 的变异、免疫逃逸、抗药性、毒力和传播,甚至 AIDS 的治疗与疫苗设计等有关。

和上述生物相比,由于情况十分特殊,SARS-CoV 的逆向进化有非常明显之不同。我们重新研究和分析了国际上学者们已做的大量工作[1,3~16,18~40],虽然他们对自己的结果做了全面深入地常规分析;而我们却以另一甚至相反的角度,加以综合、比较,并以有关理论指导,揭示了 SARS-CoV 逆向进化之规律,为探讨 SARS-CoV 系统发育及其起源的真实状况打下科学基础。

1. 2003 年末至 2004 年初广州爆发中 SARS-CoV 和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行早期 SARS-CoV 之亲缘距离较晚期的更接近。

学者们将 2002 年 11 月至 2003 年 7 月之流行,按时间分成 3 个阶段:早期、中期和晚期[1,18]。Song H 等[18]将 91 条患者(HP)与 5 条果子狸(PC)SARS-CoV 序列的全部单核苷酸变异(single nucleotide variation,SNV)和缺失构建了无根系统发育树。虽然,作者以此发育树的结果提出,2003 年末至 2004 年初广州爆发中 SARS-CoV 和 2002 年 11 月至 2003 年 7 月流行之3 个阶段的不同,为一独立进化事件。然而,我们从 Song 的无根系统发育树中,获得非同寻常的信息,有了关键性之发现:2003 年末至 2004 年初广州爆发中 SARS-CoV 和 2002 年 11 月至 2003 年 6 月流行中早期 SARS-CoV 之距离较晚期的更接近。可见,其是"逆向进化"之反映[87]。Song H 等研究的宗旨主要有两点:①广州爆发是个独立事件,且由果子狸传至人;②寻找和跨种传播有关的突变热点。但却无意地为我们提供了"逆向进化"的证据;在此,我们十分感谢 Song H 等所做的重要贡献。

此外,Janies D 等[26]构建的几种系统发育树同样证明,2003 年末至 2004 年初广州爆发中 SARS-CoV 和 2002 年 11 月至 2003 年 6 月流行中早期 SARS-CoV 之亲缘距离较晚期的更接近。其他文献系统发育树的结果也呈类似趋势[11,20,25]。

2. SARSCoV 受体结合位点重要氨基酸出现"逆向进化"

如上已述,目前公认蝠 SARS 样冠状病毒(Bt SL-CoV)是 SARS-CoV 隔数代的共同祖先,尤其是 Rp3 株(亲代 3)[19~21,24,25,27,28,30]。

我们在研究有关SARS-CoV受体结合位点重要氨基酸(AA)的文献[11,18,20,26,31,32~35,37,89]时发现,学者们普遍认为,和SARS-CoV传播力密切相关的、与人或果子狸受体ACE2之结合位点,为基因S1编码的AA318-510位点。其中487、479位尤为重要。Song H,Janies D,Kan B,Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium,Wang M等用S1基因核苷酸和AA位点的突变、变异和比对等分子生物学方法进行确认[1,11,12,18,26];Li F,Holmes KV,Qu XX,Wu K,Li W等同时应用免疫试验、嵌合ACE2 (chimericACE2)、X射线晶体学,甚至细胞培养等实验手段进行了验证[31~34,37,88,89]。Holmes KV,Li F,Li W等非常精练而又具体指出487、479两位AA之作用:2002—2003年流行中的SARS-CoV株的S蛋白环RBD(receptor-binding domain)结构和人受体ACE2之间的结合界面,若(N479K)增加电荷和关键甲基基团(T487S)缺失,则其和人受体ACE2结合的亲和力差1000倍以上[31,32,89],正如2003年12月至2004年1月广州爆发中患者和狸株那样。

可见,研究者的宗旨是寻找和跨种传播有关的突变热点,同时探索SARS-CoV进化特点和起源。实际上也已将487、479位等重要AA在病毒侵入人体、跨种传播甚至进化起源中的作用了解得相当清楚。但是,未进行纵向和全面比较,或者更重要的是未用“逆向进化”理论拓展思路或尚未认识“逆向进化”。所以无法完全合理解释所得资料,无法得出正确的总体结论,而只能寄托于“未来的深入研究”;但这些资料却在客观上为我们“逆向进化”的研究提供了科学依据。

在此,我们将上述文献中关于487、479两位AA从早期祖先Bt SL-CoV开始,经果子狸SARS-CoV,2002—2003年流行之早、中、晚期(实际也包括2004年实验室感染),直至2003年12月至2004年1月广州爆发果子狸和患者SARS-CoV中的变异历程,进行综合考察(表1)。

从表1可见,病毒479位AA在Bt SL-CoV(亲代3)为S(丝氨酸,serine);至2002—2003年流行时果子狸株,为3种同时存在:R(精氨酸,arginine)、K(赖氨酸,lysine)和N(天冬酰胺,asparagine);至2002—2003年流行时患者株,仅有果子狸株中的1种:N;令人惊异的是,2003年12月至2004年1月广州爆发时的果子狸株,仅为原先3种中的2种:R、N;其时患者株却和2002—2003年流行时果子狸株相同,为3种:R、K、N同时存在。

487位AA也有类似进化历程:病毒在Bt SL-CoV(亲代3)为V(缬氨酸,Valine);至2002—2003年流行时果子狸株,为S(丝氨酸,serine);至2002—2003年流行时患者株,为T(苏氨酸,Threonine);同样,令人惊异的是,2003年12月至2004年1月广州爆发时的果子狸株和患者株,均为S(丝氨酸,serine)。

很显然,2位AA从早期祖先Bt SL-CoV开始,直至2003年12月至2004年1月广州爆发止,其变异进程可能经过了如下不完全的历史回复(逆向进化):蝠株(亲代3)——?(亲代2)——?(亲代1)?——02-03果子狸株——02-03人株——03-04果子狸株——03-

04 人株—— 02-03 果子狸株——(亲代?)? ——?? ——消失。当然可能还有其他进化过程,可能更复杂曲折。然而,无论何种过程,2 位 AA 在 03-04 人株中类型均向 02-03 果子狸株回复,再结合上述广州爆发病例的临床和流行病学特点,不难推断 SARS-CoV 经历了“逆向进化”。

表 1 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV S1 区 487,479 位 AA 在不同宿主和不同流行期之间的变异或进化 *

SARS-CoV 或 Bt SL-CoV 宿主和年代		479	487
[a]蝠(亲代 3)	1998 前后	S	V
?? (亲代 2,1)	1998—2002	??	??
[b]果子狸	2002—2003 年	R、K、N	S
	2003.12—2004.1 广州爆发	N、R、	S
人	2002.11—2003.7 早期	N	[c]T
	2002.11—2003.7 中晚期	N	T
	2003.12—2004.1 广州爆发	N、K、[d]R	S

* 主要文献来源:1,11,12,18,26,31-35,37,89

a:蝠 Bt SL-CoV:479 位仅为 S(丝氨酸,serine),487 位仅为 V(缬氨酸,Valine)

b:果子狸 SARS-CoV:479 位有 3 种 R(精氨酸,arginine)、K(赖氨酸,lysine)、N(天冬酰胺,asparagine),487 位仅为 S

c:T:苏氨酸,Threonine

d:引自:Janies D,Habib F,Alexandrov B,Hill A,Pol D. 2008. Evolution of genomes,host shifts and the geographic spread of SARS-CoV and related coronaviruses. Cladistics 24,111-130.

Janies 等专门构建了不同宿主 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV S1 区 487,479 位 AA 的 2 种系统发育树[26]。从中,可更清楚更明确地了解我们的研究观点。

3. SARS-CoV 或 Bt SL-CoV ORF8 特征性 29-nt(characteristic 29-nucleotide)及其缺失(deletion)在不同宿主和不同流行期存在“逆向进化”

前面已提及,人和狸 SARS-CoV 基因组的主要基因为 ORF1a,ORF1b,S,E,M 和 N。此外,其具 SARS-CoV 独特的附属基因(the accessory genes unique to the SARS-CoV),即开放读码框 8(ORF8)。后者含特征性 29-nt 序列:CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT(nt. 27869~27897)。早在 2003 年有些学者发现,除从受染果子狸和 2002—2003 年流行早期极少数患者以及 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发患者分离的 SARS-CoV 外,ORF8 特征性 29-nt 在大部 SARS 病例中缺失。故将此 29-nt 缺失,谓之特征性 29-nt 缺失(characteristic 29-nucleotide deletion)。这种分布之特殊性,引起国内外研究者的关注,认为特征性 29-nt缺失是否关系到 SARS-CoV 从动物至人类的适应性[15]。

此后的深入探讨和实验研究[1,13,18,20,21,26,36,87,90,91],证实 SARS-CoV 确实有两种类型:ORF8 29-nt 型和 29-nt 缺失型。鉴于特征性 29-nt 对 SARS-CoV 的重要性,Chinese SARS

Molecular Epidemiology Consortium 在科学(*Science*)杂志文章附件图2(Fig. S2)中专门画出其定位区 Orf7b-Orf8 之二级结构,且将流行早期广州 GZ02(有29-nt)和晚期加拿大 TOR2(29-nt 缺失)的2株病毒进行了比较[1]。Oostra M, Keng CT, Chen CY 等发现,ORF8 表达之蛋白在细胞内可能参与调节 SARS-CoV 的复制,并和致病力有关,故29-nt deletion 将严重影响这些功能[87,90,91]。

令人惊异的,学者们发现在蝠 SARS 样冠状病毒(Bt SL-CoV)中,同样存在 ORF8 特征性29-nt 序列,CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT(nt. 27866-27894),且①仅在蝠内,为其特有。②系统发育学分析,和宿主蝠联系紧密。③和上述人与狸中29-nt 序列相比,核苷酸位点提前3位,是直系基因位置(anorthologous genomic position)关系,有12位 nt 呈多态性,我们称其为"原29-nt";而上述 CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT(nt. 27869-27897),称为"变29-nt"。系统发育分析发现,在83、114和157三种不同数目的 SARS-CoV 基因组合内,虽然"变29-nt"在人与包括果子狸在内食肉目之间或食肉目内部的病毒-宿主转移次数多而杂,但"变29-nt"的存在和宿主相关,甚至有的呈统计学显著性。

我们进一步研究上述文献发现,如同 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV 基因 S1 区487,479二位 AA,特征性29-nt 在 SARS-CoV 进化历程中,有十分类似的"逆向进化",并将其归纳为表2。从表2可见,果子狸 SARS-CoV 中,均为"变29-nt",但在人群2002年11月至2003年7月流行中,除最早期少数病例外,绝大部分 SARS 病例的病毒 ORF829-nt 均缺失(29-nt 缺失);而在2003年12月至2004年1月广州爆发病例中,却又出现"变29-nt"。

表2　SARS-CoV 或 Bt SL-CoV ORF8 特征性29-nt 序列在不同宿主和不同流行期之间的变异或进化

SARS-CoV 或 Bt SL-CoV 宿主和年代		ORF8 特征性29-nt 序列
a蝠(亲代3)	1998前后	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT,nt. 27866-27894(原29-nt)
??(亲代2,1)	1998—2002	??
b果子狸	2002—2003	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT,nt. 27869-27897(变29-nt)
	2003—2004	
人	2002. 11—2003. 7 最早期少数病例	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT,nt. 27869-27897(变29-nt)
	2002. 11—2003. 7 早、中、晚期	29-nt 缺失
	2003. 12—2004. 1 广州爆发	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT,nt. 27869-27897(变29-nt)

a:蝠 Bt SL-CoV:"原29-nt"为蝠独有;
b:果子狸 SARS-CoV:仅具"变29-nt"

上述3个方面,是我们目前发现 SARS-CoV 存在的主要"逆向进化";肯定还有。例如,在 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV ORF1a 基因 nsp3 区有一独特的 CDS(coding sequence),仅存在 SARS-CoV 及其某些蝠的高度相关病毒内,其他任何冠状病毒均无,故称为 SUD(SARS-CoV uniquedomain)[9,18,88,92]。学者们发现,SUD 有357氨基酸残基,含3个不同亚结构域:SUD-

N,SUD-M 和 SUD-C;其功能可能通过结合 RNA 上的 G-四联体参与调节病毒复制或抵抗受感染的宿主免疫反应。可见,其作用十分重要。但是,Song H 等指出,2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发病例的 SARS-CoV 中 ORF 1a 基因 nt. 6295 突变,导致 nsp3 的 CDS (SUD)出现了一个终止密码子;并认为此特别的突变可能和广州爆发病例的临床症状轻微与传染性较低有关[18]。在此,又如前述,Song H 的研究目标是证明广州爆发是区别于 2002 年 11 月至 2003 年 6 月中国内地流行的一次独立事件,但客观上却给我们提供了 SARS-CoV 逆向进化之又一证据。因为 SUD 功能减弱或丧失,反映 SARS-CoV 不能适应人群,其基因正在发生回复变化。

可以设想,随着我们将逆向进化的理论和方法引入 SARS-CoV 的贮存宿主和进化与起源研究,有关其逆向进化的方方面面将有更多报告,对其机制及其具体情节的研究将更全面、更深入。

但需指出,SARS-CoV 的逆向进化和以往文献有关逆向进化的方式均不同,也即 SARS-CoV 的逆向进化方式史无前例,在地球生物进化史上尚未见过。因为:

1. SARS-CoV 的进化并非完全发生在地球自然界和人类中发生的(详细见下)。

2. SARS-CoV 的进化过程曾经过非自然的步骤(详细见下)。

3. SARS-CoV 的寿命(也可为进化历程)之短,在同类病毒或病毒界甚至更大范围的生物领域可能非常罕见,甚至绝无仅有。

4. SARS-CoV 的毒力和传播力变异相当悬殊:强时致病 8098 例,致死 774 例,出现很多超级传播者,波及 29 个国家或地区;弱时仅在 1 城市致病 4 例,无续发。而且这一过程仅发生在短短的 1 年多时间,仅为历史或生物界传染病史之一瞬间。

到此,应该回答下一问题:SARS-CoV 为何出现"逆向进化",又如何和其起源与消失有关?

(三)SARS-CoV"逆向进化"的原因和 SARS-CoV 起源与消失之假设

逆向进化是生物进化中的正常过程,在生物界普遍存在;但是,我们对此知之甚少,研究也不多。出乎意料的是,逆向进化不仅必不可少,而有时其有顽强的表现。如有人估计,鲸类后肢返祖的能力可保留 10^6 至 10^7 代,但不可逆性仅存在很短时间[72,76,77]。所以,SARS-CoV 呈现逆向进化不足为奇。

逆向进化出现的机制可能很复杂,主要可能有几方面:①自然状态下,选择性景观(landscape)很复杂,生物需以无数方式去适应;②生物的基因和基因型的空间非常大,甚至难以胜数,故生物有能力去适应内外环境之变化;③群体保留一种进化记忆(evolutionary memory),可通过永久的遗传变异(the standing genetic variation),记取其不久前的进化[72,74]。

逆向进化出现的直接原因,主要是生物生存景观或环境发生了变化。而且,目前初步发现影响逆向进化产生程度和速度的一些因素:①若一个群体迁入一种新环境时间很短,其易保持祖先环境产生的永久遗传变异;②籍逆向进化返回祖先状态时,选择现有基因型中有利于祖先环境变异的频率将增加;③在新环境中,新的选择变异株少,反映其新的选择性条件差,有利于逆向进化[72,74,75]。

现在,我们再简要回顾包括上述已讨论过的 SARS-CoV 的出现、进化和流行及其研究过程中的主要特点:①SARS-CoV 的最早祖先最可能是 Bt SL-CoV (Rp3 株),两者共同祖先时间约距 SARS 爆发 4.5 年。②至今未在动物中找到 SARS-CoV 的直接祖先和贮存宿主。③除 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发和实验室感染外,并无疫苗预防,SARS 整个流行仅持续 8 ~9 个月;且爆发和消失的时间点均突然。④SARS-CoV 和其他 CoV 所致疾病的流行病学与临床特点相去甚远。⑤SARS 及其病原体 SARS-CoV 和近年来出现的新发传染病之病毒进化和流行过程之普遍规律不符。⑥SARS-CoV 进化中出现许多逆向进化之特点。⑦除 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发和实验室感染外,至今已近 10 年再未见病例和动物受染。至此,我们应该有理由认为,SARS-CoV 的起源非同一般,是“非自然”起源,即由 Bt SL-CoV(Rp3 株)或类似病毒株经非自然改造所致;否则不能解释上述诸点。

因为是“非自然”起源,在“非自然”地传入新的宿主群体(包括人和狸等动物)后,即不断受到强大的“逆向进化”之压力。而且,由于:①因为其离祖先病毒株仅约 4 年时间,在病毒进化史中极为短促和反常。此不仅更加证明 SARS-CoV 的产生为“非自然”性;而且可肯定 SARS-CoV 产生后,不可能在进入人群前在人类亲缘关系很近的动物群体内做流行试验,故人群是其非常不适应之新宿主。②同理,SARS-CoV 产生后,迅即进入一个全新之陌生环境,故易保持祖先环境产生的永久遗传变异。③在新宿主中,SARS-CoV 新的选择性条件差,因为可见,其不同于其他 RNA 病毒,流行中未见新的亚型出现;相反,阳性逆择压不断降低;表明其为“逆向进化”创造了有利条件,选择 SARS-CoV 基因中有利于祖先环境变异的频率将增加。所以,SARS-CoV 进入人群后,特征性 29-nt 序列很快丢失;出现了一系列的逆向进化;一年后毒力和传播力即非常明显下降,不久在人类和自然界消失。

根据上述的论证,结合科学思考,我们构建了“SARS-CoV 的起源和进化假设”的框架图(图 1)。

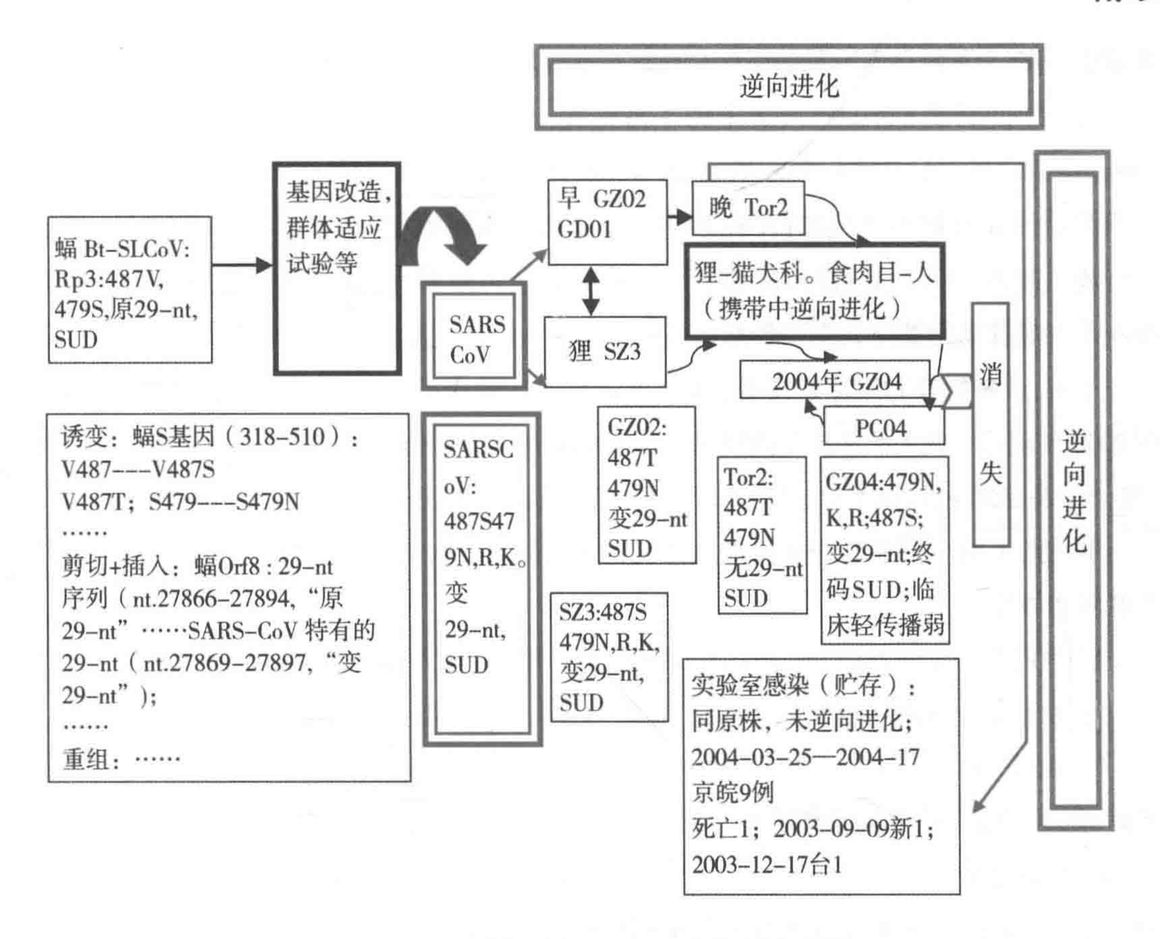


图 1 "SARS-CoV 的起源和进化假设"的框架图

注:①图中框,总体分两层:上层为 SARS-CoV 的起源和进化流程;下层除"实验室感染"外,为上层框的内容或毒株特性之描述;

②487、479:SARS-CoV 或 Bt SL-CoV S1 区 487,479 位 AA,数字前或紧随其后的大写英文字母为 AA 之种类;

③原 29-nt,变 29-nt,无 29-nt:分别代表 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV ORF8 特征性 29-nt 序列:CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT(nt.27866-27894),CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT(nt.27869-27897)和特征性 29-nt 序列缺失;

④SUD,终码 SUD:分别代表 SARS-CoV 或 Bt SL-CoV ORF1a 基因 nsp3 区独特的 CDS 和 nt.6295 突变后出现终止密码子的 SUD;

⑤SARS-CoV 毒株:早 GZ02 GD01:2002.11—2003.7 流行早期患者 2 株病毒;晚 Tor2:2002.11—2003.7 流行晚期患者 1 株病毒;狸 SZ3:2002.11—2003.7 流行早期果子狸 1 株病毒;2004 年 GZ04:2003.12—2004.1 广州爆发患者毒株;PC04:2003.12—2004.1 广州爆发果子狸毒株。在此特别强调说明:在图中,也即 SARS-CoV 的起源和进化过程中,这些毒株应看作为该时期 SARS-CoV 毒株的代表,并非仅是其本身;

⑥实验室感染(贮存):首先指 3 起实验室感染及其发生地,时间和例数:2004-3-25 至 4-17 京皖(北京安徽);2003-9-9 新(新加坡);2003-12-17 台(台湾);紧随其后的数字为例数。其次,指目前自然界已不存在 SARS-CoV,仅贮存于实验室内。

关于此图,除了注释外,还需讨论一个重要点,即非自然改造。前述已提及 SARS-CoV 是经非自然改造产生。最近多年,人们一直关注着这种非自然改造技术及其应用,尤其是病毒经基因改造后能使其在哺乳动物甚至人群中流行的研究。最好的实例,是 2011 年 8 月以来

争议半年多、可能震荡国际基础医学和预防医学界甚至各国大量公众后，分别登在2012年“自然 Nature”和“科学 Science”杂志上的2篇论文；论文的作者们通过基因改造的方法，产生 a reassortant H5 HA/H1N1 virus 或 avian A/H5N1 influenza viruses，经作为人传人最好的动物模型雪貂(ferret)试验，使这两种病毒不需经中介宿主内重组，即获得在哺乳动物中通过空气传播之能力[93,94]。他们的结果提示，经基因改造，可使某些低级动物为贮存宿主的病毒直接获得在哺乳动物甚至人类中传播和流行之能力，由此给人类社会构成严重威胁。然而，近一二十年，多种媒体和渠道散播着，人类早就掌握这种或类似的方法，因此，完全可以设想，在2000年前后有些人已初步掌握将蝠 Bt SL-CoV Rp3 或类似病毒经非自然改造成 SARS-CoV 的技术[编委会注：详见本书“当代基因(人制新种病原体和致病基因)武器及其施放”章]。

虽然图1的个别环节和某些细节还需完善、补充和修改，但从总体上可以合理地解释如下疑问和事实：

1. 为何 SARS 在2004年2月后，除实验室感染外，在人群中再无病例发生和流行。

2. 为何至今尚未在自然界中找到 SARS-CoV 的直接祖先和贮存宿主。

3. 为何2003年12月至2004年1月广州爆发和2002年11月至2003年7月人群流行之间，临床和流行病学特点有很大差异。

4. 为何2003年12月至2004年1月广州爆发中人和狸 SARS-CoV 的亲缘关系，较和2002年11月至2003年4月人群流行早期毒株接近，而非晚期。

5. 为何 SARS-CoV 和宿主受体 ACE2 结合的 S1 区重要 AA 位点之变异、ORF8 29-nt 的变异或缺失以及 SUD 出现终止密码子等。

(四)结论和建议

本文以分子流行病学、系统发育学和逆向进化的理论与方法，重新审视和综合分析了 SARS 流行以来的文献和与之相关的历史资料，提出有关 SARS-CoV 起源和进化之全新观点：SARS-CoV 是由蝠 Bt SL-CoVRp3 或类似病毒经非自然改造而成，在“非自然”地传入人群后，连续受到强大的不适应之压力，经逆向进化使其逐渐接近祖先状态，毒力和传播力不断降低，甚至在人群中消失。故其起源可能为非完全动物源性。

从本文之工作，可得出如下结论：

1. 在人类动物源性传染病(zoonosis)发展史上，我们首次提出由非完全动物源性导致某种动物源性传染病全球流行之可能，希望引起有关医学专家的关注。

2. 人类已经进入利用非自然改造技术制造新病原体并使之在人群中流行之时代，应引起 WHO、有关国际机构和各国政府以及医学卫生专家的关注。

3. 逆向进化理论在指导人们认识传染病起源方面发挥了重要作用。

附录

通过本文之研究，我们正式向 WHO 提出建议：组织一个专家委员会，会同有关政府和部门，完成如下 2 项任务：

1. 对有关人群和动物群体，进行调查研究，确认 SARS-CoV 已经在人群和自然界消失，并予以正式宣布，以使公众和有关国家政府安心；也慰籍无私奉献、专业超群的科学家 Dr. Carlo Urbani，他是判定 SARS 爆发的首位 WHO 官员，后在岗位上受染而牺牲[4,95]。

2. 在专门实验室，验证蝠 Bt SL-CoV Rp3 或类似病毒经非自然改造产生 SARS-CoV 之实验过程。

参考文献

[1] Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China[J]. Science, 2004, 303(5664): 1666-1669.

[2] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003(revised 26 September 2003). http://www.who.int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index.html.

[3] Marra MA, Jones SJ, Astell CR, et al. The Genome sequence of the SARS-associated coronavirus[J]. Science, 2003, 300(5624): 1399-1404.

[4] Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J]. N Engl J Med, 2003, 348(20): 1953-1966.

[5] Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome[J]. Science, 2003, 300(5624): 1394-1399.

[6] Ruan YJ, Wei CL, Ee AL, et al. Comparative full-length genome sequence analysisof 14 SARS coronavirus isolates and common mutations associated with putative origins of infection[J]. Lancet, 2003, 361(9371): 1779-1785.

[7] Peiris JS, Lai ST, Poon LL, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome[J]. Lancet, 2003, 361(9366): 1319-1325

[8] Drosten C, Gunther S, Preiser W, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome[J]. N Engl J Med, 2003, 348(20): 1967-1976.

[9] Snijder EJ, Bredenbeek PJ, Dobbe JC, et al. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage[J]. J Mol Biol, 2003, 331(5): 991-1004.

[10] Guan Y, Zheng BJ, He YQ, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China[J]. Science, 2003, 302(5643): 276-278.

[11] Kan B, Wang M, Jing H, et al. Molecular evolution analysis and geographic investigation of severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in palm civets at an animal market and on farms[J]. J Virol, 2005, 79(18): 11892-11900.

[12] Wang M, Yan M, Xu H, et al. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet[J]. Emerg Infect

Dis,2005,11(12):1860-1865.

[13] Wu D,Tu C,Xin C,et al. Civets are equally susceptible to experimental infection by two different severe acute respiratory syndrome coronavirus isolates[J]. J Virol,2005,79(4):2620-2625.

[14] Tu C,Crameri G,Kong X,et al. Antibodies to SARS coronavirus in civets[J]. Emerg Infect Dis,2004,10(12):2244-2248.

[15] Enserink M. Infectious diseases. Clues to the animal origins of SARS[J]. Science,2003,300(5624):1351.

[16] Yeh SH,Wang HY,Tsai CY,et al. Characterization of severe acute respiratory syndrome coronavirus genomes in Taiwan:molecular epidemiology and genome evolution[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2004,101(8):2542-2547.

[17] Xu RH,He JF,Evans MR,et al. Epidemiologic clues to SARS origin in China[J]. Emerg Infect Dis,2004,10(6):1030-1037.

[18] Song HD,Tu CC,Zhang GW,et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(7):2430-2435.

[19] Li W,Shi Z,Yu M,et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses[J]. Science,2005,310(5748):676-679.

[20] Yip CW,Hon CC,Shi M,et al. Phylogenetic perspectives on the epidemiology and origins of SARS and SARS-like coronaviruses[J]. Infect Genet Evol,2009,9(6):1185-1196.

[21] Lau SK,Woo PC,Li KS,et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(39):14040-14045.

[22] Fenton MB,Davison M,Kunz TH,et al. Linking bats to emerging diseases[J]. Science,2006,311(5764):1098-1099.

[23] Ren W,Li W,Yu M,et al. Full-length genome sequences of two SARS-like coronaviruses in horseshoe bats and genetic variation analysis[J]. J Gen Virol,2006,87(Pt 11):3355-3359.

[24] Tang XC,Zhang JX,Zhang SY,et al. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China[J]. J Virol,2006,80(15):7481-7490.

[25] Hon CC,Lam TY,Shi ZL,et al. Evidence of the recombinant origin of a bat severe acute respiratory syndrome(SARS)-like coronavirus and its implications on the direct ancestor of SARS coronavirus[J]. J Virol,2008,82(4):1819-1826.

[26] Janies D,Habib F,Alexandrov B,et al. Evolution of genomes,host shifts and the geographic spread of SARS-CoV and related coronaviruses[J]. Cladistics,2008,24(2):111-130.

[27] Lau SK,Li KS,Huang Y,et al. Ecoepidemiology and complete genome comparison of different strains of severe acute respiratory syndrome-related Rhinolophus bat coronavirus in China reveal bats as a reservoir for acute,self-limiting infection that allows recombination events[J]. J Virol,2010,84(6):2808-2819.

[28] Gouilh MA,Puechmaille SJ,Gonzalez JP,et al. SARS-Coronavirus ancestor's foot-prints in South-East Asian bat colonies and the refuge theory[J]. Infect Genet Evol,2011,11(7):1690-1702.

[29] Balboni A,Battilani M,Prosperi S. The SARS-like coronaviruses:the role of bats and evolutionary relationships with SARS coronavirus[J]. New Microbiol,2012,35(1):1-16.

[30] Wang LF,Shi Z,Zhang S,et al. Review of bats and SARS[J]. Emerg Infect Dis,2006,12(12):1834-1840.

[31] Li F,Li W,Farzan M,et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor[J]. Science,2005,309(5742):1864-1868.

[32] Holmes KV. Structural biology. Adaptation of SARS coronavirus to humans[J]. Science,2005,309(5742):1822-1823.

[33] Qu XX,Hao P,Song XJ,et al. Identification of two critical amino acid residues of the severe acute respiratory syndrome coronavirus spike protein for its variation in zoonotic tropism transition via a double substitution strategy[J]. J Biol Chem,2005,280(33):29588-29595

[34] Li F. Structural analysis of major species barriers between humans and palm civets for severe acute respiratory syndrome coronavirus infections[J]. J Virol,2008,82(14):6984-6991.

[35] Graham RL, Baric RS. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission[J]. J Virol,2010,84(7):3134-3146.

[36] Qin E,He X,Tian W,et al. A genome sequence of novel SARS-CoV isolates: the genotype, GD-Ins29, leads to a hypothesis of viral transmission in South China[J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2003,1(2):101-107.

[37] Wu K,Peng G,Wilken M,et al. Mechanisms of host receptor adaptation by severe acute respiratory syndrome coronavirus[J]. J Biol Chem,2012,287(12):8904-8911.

[38] Demogines A,Farzan M,Sawyer SL. Evidence for ACE2-utilizing coronaviruses(CoVs) related to severe acute respiratory syndrome CoV in bats[J]. J Virol,2012,86(11):6350-6353.

[39] Adedeji AO,Marchand B,Te VA,et al. Mechanism of nucleic acid unwinding by SARS-CoV helicase[J]. PLoS One,2012,7(5):e36521.

[40] Yu MS,Lee J,Lee JM,et al. Identification of myricetin and scutellarein as novel chemical inhibitors of the SARS coronavirus helicase, nsP13[J]. Bioorg Med Chem Lett,2012,22(12):4049-4054.

[41] BBCNEWS: Threat of new Sars outbreak 'low'
http://news.bbc.co.uk/go/pr/fr/-/2/hi/health/4280253.stm, Published: 2005/02/20 00:33:34 GMT

[42] 钟南山:"非典灭绝说"是种危险误导(中文)ZhongNanshan:"Opinion of SARS extinction" is a kind of risk of misleading(in Chinese)
(http://scitech.people.com.cn/GB/25893/3196196.html)

[43] 文涛. SARS病毒是否已在自然界彻底灭绝?[J]国外科技动态,2005,(3):28-31.
Wen T. Whether SARS-CoV has extinct in nature completely?[J]Foreign Technology Dynamic,2005,(3):28-31(in Chinese).

[44] WHO. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003(revised 26 September 2003).
(http://www.who.int/csr/sars/country/table2003_09_23/en/index.html.)

[45] 胡锦涛. 在全国防治非典工作会议上的讲话(2003年7月28日),《十六大以来重要文献选编》(上)[M]. 北京:人民出版社,2005:404-405(中文).
Hu JT. The speech at the national conference on SARS prevention work(July28,2003). Selected Important Documents Since the Sixteech Congress[M]. Beijing: People's Press House,2005:404-405.

[46] Bhattacharya S. The World Health Organization and global smallpox eradication[J]. J Epidemiol Community Health,2008,62(10):909-912.

[47] Hasebe F,Thuy NT,Inoue S,et al. Serologic evidence of nipah virus infection in bats, Vietnam[J]. Emerg Infect Dis,2012,18(3):536-537.

[48] Harcourt BH,Lowe L,Tamin A,et al. Genetic characterization of Nipah virus, Bangladesh, 2004[J]. Emerg Infect Dis,2005,11(10):1594-1597.

[49] Calisher CH, Childs JE, Field HE, et al. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses[J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(3): 531-545.

[50] Hsu VP, Hossain MJ, Parashar UD, et al. Nipah virus encephalitis reemergence, Bangladesh[J]. Emerg Infect Dis, 2004, 10(12): 2082-2087.

[51] Lo MK, Lowe L, Hummel KB, et al. Characterization of Nipah virus from outbreaks in Bangladesh, 2008-2010[J]. Emerg Infect Dis, 2012, 18(2): 248-255.

[52] Kurth A, Kohl C, Brinkmann A, et al. Novel paramyxoviruses in free-ranging European bats[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38688.

[53] WHO. China's latest SARS outbreak has been contained, but biosafety concerns remain-Update7 (http://www.who.int/csr/don/2004_05_18a/en/index.html).

[54] 张朝武,姚玉红,王国庆. 从 SARS-CoV 实验室感染看生物安全的重要性[J]. 现代预防医学, 2004, 31(5): 656-660.

[55] Taylor BS, Hammer SM. The challenge of HIV-1 subtype diversity[J]. N Engl J Med, 2008, 359(18): 1965-1966.

[56] Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, et al. HIV-1 nomenclature proposal[J]. Science, 2000, 288 (5463): 55-6.

[57] Sharp PM, Hahn BH. The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS[J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2010, 365(1552): 2487-2494.

[58] Lythgoe KA, Fraser C. New insights into the evolutionary rate of HIV-1 at the within-host and epidemiological levels[J]. Proc Biol Sci, 2012, 279(1741): 3367-3375.

[59] Matthews PC, Prendergast A, Leslie A, et al. Central role of reverting mutations in HLA associations with human immunodeficiency virus set point[J]. J Virol, 2008, 82(17): 8548-8559.

[60] Worobey M, Gemmel M, Teuwen DE, et al. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960[J]. Nature, 2008, 455(7213): 661-664.

[61] Zhu T, Korber BT, Nahmias AJ, et al. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic[J]. Nature, 1998, 391(6667): 594-597.

[62] Neogi U, Bontell I, Shet A, et al. Molecular epidemiology of HIV-1 subtypes in India: origin and evolutionary history of the predominant subtype C[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39819.

[63] Hemelaar J, Gouws E, Ghys P D, et al. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007[J]. AIDS, 2011, 25(5): 679-689.

[64] Wertheim JO, Worobey M. Dating the age of the SIV lineages that gave rise to HIV-1 and HIV-2[J]. PLoS Comput Biol, 2009, 5(5): e1000377.

[65] Lihana RW, Ssemwanga D, Abimiku A, et al. Update on HIV-1 diversity in Africa: a decade in review[J]. AIDS Rev, 2012, 14(2): 83-100.

[66] Keele BF, Van Heuverswyn F, Li Y, et al. Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic HIV-1[J]. Science, 2006, 313(5786): 523-526.

[67] Aldrich C, Hemelaar J. Global HIV-1 diversity surveillance[J]. Trends Mol Med, 2012, 18(12): 691-694.

[68] Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic[J]. Trends Mol Med, 2012, 18(3): 182-192.

[69] WHO. Pandemic(H1N1) 2009(http://www.who.int/csr/disease/swineflu/en/).

[70] Fraser C, Donnelly C A, Cauchemez S, et al. Pandemic potential of a strain of influenza A(H1N1): early findings[J]. Science, 2009, 324(5934): 1557-1561.

[71] Dawood FS, Jain S, Finelli L, et al. Emergence of a novel swine-origin influenza A(H1N1) virus in humans[J]. N Engl J Med, 2009, 360(25): 2605-2615.
[72] Teotonio H, Rose MR. Perspective: reverse evolution[J]. Evolution, 2001, 55(4): 653-660.
[73] Bull JJ, Charnov EL. On Irreversible Evolution[J]. Evolution, 1985, 39(5): 1149-1155.
[74] Desai MM. Reverse evolution and evolutionary memory[J]. Nat Genet, 2009, 41(2): 142-143.
[75] Teotonio H, Chelo IM, Bradic M, et al. Experimental evolution reveals natural selection on standing genetic variation[J]. Nat Genet, 2009, 41(2): 251-257.
[76] Bull JJ, Badgett MR, Wichman HA, et al. Exceptional convergent evolution in a virus[J]. Genetics, 1997, 147(4): 1497-1507.
[77] Castro F, Gaedke U, Boenigk J. Reverse evolution: driving forces behind the loss of acquired photosynthetic traits[J]. PLoS One, 2009, 4(12): e8465.
[78] Cook LM, Grant BS. Frequency of insularia during the decline in melanics in the peppered moth Biston betularia in Britain[J]. Heredity(Edinb), 2000, 85(6): 580-5.
[79] Grant BS, Wiseman LL. Recent history of melanism in American peppered moths[J]. J Hered, 2002, 93(2): 86-90.
[80] Cook LM. The rise and fall of the Carbonaria form of the peppered moth[J]. Q Rev Biol, 2003, 78(4): 399-417.
[81] Grant BS. Allelic melanism in American and British peppered moths[J]. J Hered, 2004, 95(2): 97-102.
[82] Saenko SV, Jeronimo MA, Beldade P. Genetic basis of stage-specific melanism: a putative role for a cysteine sulfinic acid decarboxylase in insect pigmentation[J]. Heredity(Edinb), 2012, 108(6): 594-601.
[83] 郑守曾. 中医学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 26-43.
[84] Herbeck JT, Rolland M, Liu Y, et al. Demographic processes affect HIV-1 evolution in primary infection before the onset of selective processes[J]. J Virol, 2011, 85(15): 7523-7534.
[85] Herbeck JT, Nickle DC, Learn GH, et al. Human immunodeficiency virus type 1 env evolves toward ancestral states upon transmission to a new host[J]. J Virol, 2006, 80(4): 1637-1644.
[86] Abecasis AB, Vandamme AM, Lemey P. Quantifying differences in the tempo of human immunodeficiency virus type 1 subtype evolution[J]. J Virol, 2009, 83(24): 12917-12924.
[87] Oostra M, de Haan CA, Rottier PJ. The 29-nucleotide deletion present in human but not in animal severe acute respiratory syndrome coronaviruses disrupts the functional expression of open reading frame 8[J]. J Virol, 2007, 81(24): 13876-13888.
[88] Vega VB, Ruan Y, Liu J, et al. Mutational dynamics of the SARS coronavirus in cell culture and human populations isolated in 2003[J]. BMC Infect Dis, 2004, 4: 32.
[89] Li W, Zhang C, Sui J, et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2[J]. EMBO J, 2005, 24(8): 1634-1643.
[90] Chen CY, Ping YH, Lee HC, et al. Open reading frame 8a of the human severe acute respiratory syndrome coronavirus not only promotes viral replication but also induces apoptosis[J]. J Infect Dis, 2007, 196(3): 405-415.
[91] Keng CT, Choi YW, Welkers MR, et al. The human severe acute respiratory syndrome coronavirus(SARS-CoV)8b protein is distinct from its counterpart in animal SARS-CoV and down-regulates the expression of the envelope protein in infected cells[J]. Virology, 2006, 354(1): 132-142.
[92] Johnson MA, Chatterjee A, Neuman BW, et al. SARS coronavirus unique domain: three-domain molecular architecture in solution and RNA binding[J]. J Mol Biol, 2010, 400(4): 724-742.

[93] Imai M, Watanabe T, Hatta M, et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets[J]. Nature, 2012, 486(7403): 420–428.
[94] Herfst S, Schrauwen EJ, Linster M, et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets[J]. Science, 2012, 336(6088): 1534–1541.
[95] WHO. Dr. Carlo Urbani of the World Health Organization dies of SARS(http://www.who.int/csr/sars/urbani/en/).

四、助理总干事2013年8月7日给徐德忠教授的回信(英文原件、中译文共2件)

(1)英文原件

07 AUG 2013

Dear Dr Xu,

Thank you for your letters of 4 May and 19 June 2013, addressed to Dr [redacted] Director-General of [redacted]. We are grateful for your consideration and support. Coronaviruses continue to pose threats to people's health.

As I am sure that you know, most recently, our Member States and the World Health Organization have been engaged in the response to the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). Updated information on that outbreak is available on the WHO website, http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/en/index.html

Best wishes in your academic endeavors.

Your sincerely,

Assistance Director-General for

(3)中译文

尊敬的徐博士,

感谢您分别在2013年5月4日和6月19日向总干事发来信件。我们非常感谢您的关心和支持。冠状病毒在持续威胁人们的健康。

我相信您已经了解到,就在最近,我们的会员国和组织已经着手研究应对中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV),其爆发的最新消息在WHO的网站上可以查到。

http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/en/index.html

祝您的学术研究一切顺利!

助理总干事

附录三 2013 年 WARFS 第八次国际学术会 (8th WARFS Global Conference) 评委会对论文之接收过程

目录

一、编委会注

从此附件内容,可解读出如下要点。

1. 3 位国外同行专家均赞扬本人论文,即赞同非典病毒为非自然起源。

2. 2 位西方专家似不乐意该论文口头发言,其原因不言而喻。

我们仍应非常诚挚地感谢 WARFS 第八次国际学术会及其评委会,向他们致以崇高的敬意! 因为使我们对"SARS-CoV 的逆向进化和非自然起源"的研究结果,在 SARS 这场巨大灾难发生已 10 年之后,某些人仍欲回避或淡化 SARS-CoV 的真实起源之情况下,又有一次向国际学者和公众展示的难能可贵之机会!

二、我们给 WARFS 国际学术会所投论文的摘要(英文、中译文共 2 件)

1. 英文

SARSCoV is from the unnatural origin and without reservoir

Xu D. Z. ,Sun H. M. ,Wang B. ,Zhang J. X. ,Zhang L

Department of Epidemiology,Fourth Military Medical University,Xi'an 710032,China

E-mail:xudezh69@163. com

The main body of the abstract must be structured as follows,and must not exceed 250 words:

- **Background** Though with very extensive studies since epidemic ten years ago,the origin and reservoir of SARS CoV are not yet found. Some researchers think that Bt-SLCoV Rp3 is closer to the ancestors of SARS CoV,but not the direct ancestor.
- **Purpose** To study the origin of SARS CoV.
- **Study/InterventionDesign** From an innovative macroscopic view,we restudy near all previous literatures about epidemiology and Clinical features of SARS and gene mutation, evolution and interspecies transmission of SARS CoV.
- **Methods** With the combination of epidemiological method and evolutionary theory,and with comprehensive reanalysis.
- **Results** Based on very unusual epidemiological and clinical manifestations of SARS,and an unnatural characteristics of the variation in amino acids at the receptor banding site and deletion of characteristic 29-nt of SARS CoV and Bt-SLCoV in various hosts and at dif-

ferent phases, we have first illuminated that SARS CoV experiences the reverse evolution and there is no direct ancestor and reservoir in nature, therefore it disappeared in the world except the laboratories after the epidemic.

- **Conclusion** SARS CoV is from the unnatural origin and without reservoir.
- 【Key words】SARS CoV; reverse evolution; epidemiology; reservoir

2. 中译文

SARSCoV 起源异常、且无贮存宿主

徐德忠,孙慧敏,王波,张景霞,张磊

第四军医大学流行病学教研室,西安,710032,中国

E-mail: xudezh69@163.com,

摘要基本格式如下,不能超过250字:

- 背景 从10年前SARS流行开始,虽然已进行了非常深入的研究,但对于SARS-CoV的起源和贮存宿主尚不明确。一些研究者认为,Bt-SL CoV Rp3最接近SARS-CoV的祖先,但非直接祖先。
- 目的 研究SARS-CoV的起源。
- 研究/干预设计 从一个全新的宏观视角,我们重新研究了近年有关SARS流行病学、临床特征、基因突变、进化和跨越种间屏障的几乎所有文献。
- 方法 采用流行病学方法结合进化理论,对这些文献进行了全面深入的再次分析。
- 结论 SARS-CoV为非自然起源,并且没有贮存宿主。
- 【关键词】 SARS冠状病毒;逆向进化;流行病学;贮存宿主

三、WARFS第八次国际学术会评委、流行病学教授某某对我们论文的评审情况介绍的摘录

WARFS评选上会论文的评委会进行了讨论。由A国和B国(编委会注:均为西方国家)的两位评委评审了您们优秀的论文(摘要)。他们均认为您们的摘要很优秀,……但和WARFS大会的主题——行为危险因素(如吸烟、饮酒、饮食、运动等)的监测无关……决定您的摘要不进行口头发言,但可以板报的形式参加WARFS大会。

四、WARFS 第八次国际学术会论文板报内容

SARS CoV is from the unnatural origin and without reservoir

Xu, D.Z., Sun, H.M., Wang, B., Zhang, J.X., Zhang, L
Department of Epidemiology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China



Terracotta Warriors in Xi'an is well known in the world. Two former Presidents with their families of USA had visited it. This is **President Clinton visit. We welcome you to visit the ancient city of Xi'an.**

Introduction

Though with very extensive studies since epidemic ten years ago, the **origin and reservoir** of SARS CoV are **not** yet found. Bt-SLCoV Rp3 is closer to the ancestors of SARS CoV, but **not** the **direct ancestor.**

Purpose

To study the origin and reservoir of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) coronavirus (CoV) and to draw some lessons for public health surveillance.

Methods

From an **innovative macroscopic view** and with **the combination** of epidemiology and evolutionary theory ,we **restudy and reanalysis** near all previous literatures about SARS and SARS CoV .

Results Ⅰ

➢Very unusual epidemiological and clinical manifestations , and tMRCA

●There was **no** SARS case since 02-03 epidemic except **four mild** cases in 03 - 04 Guangzhou outbreak and **subsequent** laboratory infections. It is **exclusively one** in the natural **history of human** infectious diseases.

●No secondary case in Guangzhou outbreak, because SARS CoV with **reverse evolution;** whereas one of nine cases died in the **laboratory** outbreak with **super-spreader,** just like 02-03 epidemic by the virus **without reverse evolution.**

Results Ⅱ

●Bt-SLCoV Rp3 (DQ071615) emerged in 1998, 4 ys earlier than SARS CoV. **tMRCA** (The time of the most recent common ancestor)of **SIVcpz , ancestor** of HIV, is around **1492**, 489 ys earlier than first AIDS case.

485 ys **tMRCA** difference between SARS CoV and HIV is very **unnatural.**

●Infected civets **only** in **2** live-animal markets of Shenzhen and Guangzhou got **best opportunity** for **unnatural** introduction.

➢Reverse evolution in phylogenesis of SARS CoV

●SARS CoV in **03 -04** Guangzhou outbreak shows a **closer** relationship with that at **early** phase of 02 -03 epidemic than **at late** phase (Fig.1)

●**Reverse evolution** in some **key AA** at receptor banding site, **characteristic 29-nt** and **SUD** (SARS-CoV unique domain)of SARS CoV(Fig.2) .

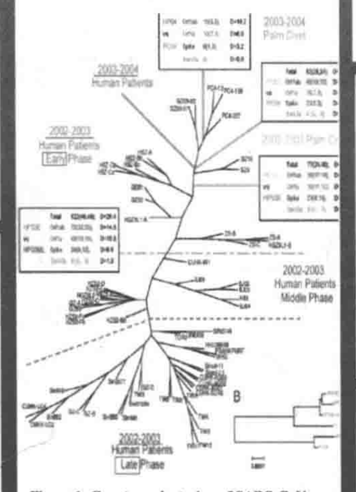


Figure 1: Genotype clustering of SARS-CoV covering the epidemics from 2002 to 2004(Ref.2)

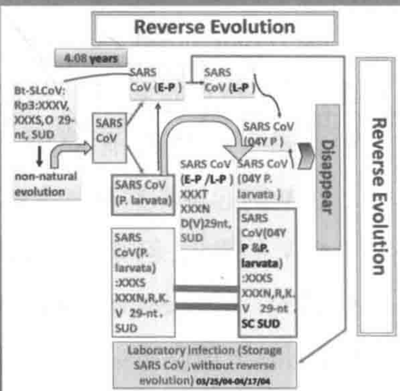


Figure 2: Hypotheses on the origin and the evolution of SARS CoV

Notes: a. Two levels in Figure . The upper describes the origin and evolution of SARS CoV, and the lower shows details;
b. **XXX** and **XXX** represent 2 amino acids (AA) at receptor banding site of SARS CoV and Bt-SLCoV, and the letters in capital after AA indicate the category;
c. **O, V and D 29- nt** represent the 3 states of characteristic 29-nt of SARS CoV and Bt-SLCoV: nt.27866–27894, nt.27869–27897and deletion of 29-nt respectively;
d. SUD and **SC SUD** represent CDS on ORF1a of SARS CoV and Bt-SLCoV, and SUD with stop codon after the variation of nt.6295 respectively.
e. SARS CoV Strains: SARS CoV (**P. larvata**) from civet , SARS CoV (**04Y** P. larvata) from civet in**2004;** SARS CoV (**E-P**) from patients infected at the **early** phase of 02-03 epidemic, SARS CoV (**L-P**) at the **late** phase, SARS CoV (**04Y P**) from patients in**2004.**

Conclusion

SARS CoV has always been under the pressure of "**reverse evolution**" since it has an "**unnatural**" origin and transmits itself "unnaturally" to new hosts including human and animals. Furthermore, emerging only four years later than Bt-SLCov, it is **not** likely to get its **adaptability to animals** having **close** genetic relationship with **human** and **in the new host,** it tends to **maintain the standing genetic variation** derived from the living environments of its **ancestors,** because the poor adaptive condition for it. So, "reverse evolution" is favorable for SARS CoV and only after one year it became rather **less powerful** in virulence and transmissibility, and **disappeared** in nature at last. It is **the best outcome** for SARS CoV.

References

1.Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium (2004). Molecular Evolution of the SARS Coronavirus During the Course of the SARS Epidemic in China. Science 303,1666–1669.
2.Song, H., et al. 2005. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102, 2430–2435.
3. XU De-Zhong, et al. SARS CoV no longer exists in nature and population. Negative 2013 ;4(1):22-26 (Chinese)
4. XU De-Zhong, et al. Unnatural origin of SARS CoV. Negative 2013 ;4(4):6-9(Chinese)
5. Hon, C.C., et al., 2008. Evidence of the recombinant origin of a bat severe acute respiratory syndrome (SARS)-like coronavirus and its implications on the direct ancestor of SARS coronavirus. J. Virol. 82 (4), 1819–1826.
6. Ruiheng Xu. Chance missed, but still there! Memoirs at the 10th anniversary of 2003 SARS outbreak. J Thorac Dis 2013;5(S2):S90-S93.

ID： E-9-001

五、WARFS 第八次国际学术会出席证书



IUHPE
UIPES
www.iuhpe.org

The 8th World Alliance for Risk Factor Surveillance Global Conference

In Recognition of Excellence in Work by

Xu, Dezhong et al.

This certificate is given to acknowledge work on the abstract

SARS CoV is from the unnatural origin and without reservoir

For Poster Presentation at the 8th WARFS Global Conference
Beijing, China, October 29-November 1, 2013

David V. McQueen   

附录四　凯瑟琳·霍姆斯(Kathryn Holmes)博士简介和2005年AAAS年会上讲话摘录以及她为何对SARS的起源与消失如此熟悉而又不完全阐明

目录

一、凯瑟琳·霍姆斯关于 SARS-CoV 的某些论断和编委会详细注解

凯瑟琳·霍姆斯博士是国际著名的美国微生物学专家,长期从事冠状病毒的研究,有卓越的成果和很多贡献。从 SARS 刚发生,她即给予强烈关注,早在 2003 年流行初期即提示 SARS-CoV 之起源,但却未将其完全阐明,也未提示如何进行深入研究。令人难忘的是"2005 年 AAAS 年会上的讲话",她首次提出了"世界上不可能再发生如两年前那样的 SARS 爆发"和"这种在人类中快速传播的病毒株可能仅仅存在于实验室"的论断,但却又未将其完全阐明。虽然,对此在学术界有过争论,但近 10 年的发展完全证明她预言和论断的正确性。仅就此点,不仅反映出她"超乎常人"的学术才干和创新精神,而且此可能从侧面反映了她为何未将其完全阐明或未进行深入探求存在着困难!

所以,当主编审阅和整理编纂书稿与资料时,在本书各章和附件多处均介绍了她在 SARS 研究领域的学术贡献和创新思路并给予了相应评价之同时,不时出现一点不安,似感有点失落,总感有点什么被遗漏,……,最终发现:她似乎仍给这个全球关注的 SARS 巨大人间灾难,可能留下了一些未及深言之困难或遗憾:

1. 她为何如此早即洞察到 SARS-CoV 寿命已尽?而又不探寻其真实起源呢?

她虽然作为世界顶级微生物学专家,可毕竟不是传染病流行病学家,而且她未提及和 SARS 在学术密切相关的自然疫源性疾病理论;却早在 2005 年初已经知道 SARS-CoV 在自然界和人类社会中的寿命已尽;已经知道"世界上不可能再发生如二年前那样的 SARS 爆发";换言之,她已经明白 SARS-CoV 的产生、流行和消失之过程,并和其他冠状病毒存在明显异常。因此,人们不得不发问:她为何不利用其博学之专业理论与长期实践经验、优越的研究条件、精干团队和国际间学术联系,探寻 SARS-CoV 的真实起源呢?!

2. 她在 2003 年 SARS 流行初期即提示 SARS-CoV 之起源,但却为何又不将其完全阐明或进行深入研究?

在本书撰写过程中,笔者又仔细研读了凯瑟琳·霍姆斯博士发表于 2003 年 5 月的一篇重要文章[Holmes KV. SARS-associated coronavirus. N Engl J Med. 2003 May 15;348(20):1948-51.],其中一段耐人寻味:"因此,SARS 冠状病毒既不是任何已知冠状病毒的突变体也不是重组体。它是一种既往未知的冠状病毒,可能来自非人类宿主,并以某种方式获得了感染人类的能力(Thus,the SARS-associated coronavirus is neither a mutant of any known coronavirus nor a recombinant of known coronaviruses. It is a previously unknown coronavirus,probably from a nonhuman host,that somehow acquired the ability to infect humans.)"。明眼的专业人士一看便知,在此她简要地直白了 SARS-CoV 之起源,仅保留或由于某些原因不能阐明其

以何"种方式获得了感染人类的能力"。

遗憾的是,当时和此后许多学者还不断研究 SARS-CoV 之重组,甚至至今还有人认为 SARS-CoV 是重组而成;未知是由于这些学者未注意到凯瑟琳·霍姆斯博士此论断,抑或不相信她的表述,笔者不敢妄测。

至于凯瑟琳·霍姆斯博士为何不能说明或不进一步研究其"何种方式获得了感染人类之能力",却是问题之症结;笔者也不能说明其原因和凯瑟琳·霍姆斯博士之心态。但有一点可肯定:这是历史的遗憾！是人类和 SARS 这场灾难搏斗的遗憾！

3. 她享有国际盛誉又明知 SARS-CoV 寿命将尽,但却又为何不向 WHO 提议进行国际间研究,以得出明晰的结论?

她享有国际盛誉,担任或曾担任过美国病毒研究协会主席、美国艺术与科学研究院主席、美国 NIH 项目的评审专家等世界级学术职务,参与过许多国际学术活动或合作事务。人们肯定会联想,她提出的"世界上不可能再发生如两年前那样的 SARS 爆发"、"这种在人类中快速传播的病毒株可能仅仅存在于实验室" 和"SARS 冠状病毒既不是任何已知冠状病毒的突变体也不是重组体。它是一种既往未知的冠状病毒,可能来自非人类宿主,并以某种方式获得了感染人类的能力"的论断,仅是根据其深厚的微生物学及其相关学科之理论基础和丰富的实验室与现场实践或其他一些原因所做出的学术假设或推理;尚需而且必须进行长期的、艰苦的、国际合作的,甚至由有关国际组织领导、各国政府参与的现场调查和实验室研究所得出的科学证据做支撑,才能获得可靠的、科学的、颠扑不破的结论。

可是,她虽然对 SARS 和 SARS-CoV 如此关注,虽然针对 SARS 不再爆发发表预言,以安抚人们心中之不安;但她却为何未利用其崇高的国际学术地位,自己或组织有关专家,就前所未有的新种病毒(具病毒发展史上呈里程碑标志的 SARS-CoV)及其所致的人类巨大伤害,向 WHO 和/或其他国际组织提议进行国际间广泛的调查和研究,以得出明晰的结论和防控类似的人间灾难、保障全球健康安全呢?!

上述 3 点疑问非常令人不解。作为本专业领域内资深的专家,作为享有学界权威、有良知的科学家,为何在这 3 点事关全球命运的问题上沉默不语、无所作为呢? 为何能做的未去做呢? 凡此种种,唯一的可能为:凯瑟琳·霍姆斯博士似有困难。这唯能待历史去解答!

二、凯瑟琳·霍姆斯(Kathryn Holmes)博士简介

1. 经历:1968 年,纽约洛克菲勒大学获得博士学位。1968—1970 年,哈佛大学:博士后。曾在乔治城大学医学院、德克萨斯大学西南医学院工作,1995 年任科罗拉多大学微生物医学部荣誉教授。

2. 学术职务:1993—1994 年:美国病毒研究协会主席;1997 年:美国艺术与科学研究院

主席,美国 NIH 项目的评审专家。

3. 主要学术贡献:冠状病毒受体的特异性及其在冠状病毒致病和演化中的作用,尤其是在冠状病毒跨越种群屏障并引起人类和动物出现新型疾病之分子机制等领域内颇有建树。

4. 有关 SARS-CoV 和其他冠状病毒的主要研究工作:

(1)分析了小鼠肝炎病毒 MHV(鼠 CEACAM1a)、人冠状病毒 HCoV-229E 和 SARS-CoV 的糖蛋白。探讨 SARS-CoV S 糖蛋白的功能和结构及其和受体的相互作用,特别是宿主受体及其与病毒感染相关的构象变化。揭示冠状病毒进入细胞的分子机制。

(2)确定了 MHV、HCoV-229E 和猫冠状病毒的受体。发现 L-SIGN 和 CD209L 是 SARS-CoV 和 HCoV-229E 的受体。尚研究其他物种的冠状病毒受体。

(3)构建成功研究冠状病毒的理想动物模型。制备的转基因小鼠可以表达人类 HCoV-229E 受体;对部分小鼠敲除编码 MHV 受体的 CEACAM1a 基因,使其可以抵抗病毒感染。

(4)寻找冠状病毒进入细胞的抑制剂,以期作为候选抗病毒药物。设计制备了 SARS 疫苗:组装多肽纳米胶囊,其含有病毒 B 细胞表位,经动物实验证实,可有效中和病毒。

三、凯瑟琳·霍姆斯在 2005 年 AAAS 年会上的讲话摘录(BBC 新闻)(中译文、英文共 2 件)

1. 中文

BBC 新闻

SARS 卷土重来的威胁降低

米歇尔·罗伯茨

BBC 新闻健康记者,在华盛顿特区报道

专家说,世界上不可能再发生如二年前那样的 SARS 爆发。

他们认为,这种在人类中快速传播的病毒株可能仅仅存在于实验室。

在华盛顿一个学术会议上,科罗拉多大学的凯瑟琳·霍姆斯博士说:仅当发生实验室的意外或动物宿主体内此病毒出现新的突变时,才会使 SARS 的不幸事件再次出现;而且即使出现,也会很快被控制。

威胁减弱

她认为,从 2002 年 11 月开始至 2003 年 6 月终止的这场 SARS(严重急性呼吸道综合征)流行中,科学家们已经学到了很多。

凯瑟琳·霍姆斯一直在研究冠状病毒,她说:"SARS 是任何新发传染病的最好研究实例之一。"

"人类流行株不会贮存于动物体内",科罗拉多大学凯瑟琳·霍姆斯博士说。

"我们现在已拥有非常敏感的诊断技术和新型治疗方法,可以对抗任何一次(SARS)的

爆发。"

"一些实验室已有能够中和 SARS 病毒的人类单克隆抗体。"

"这些抗体可以用于救治感染者,也可用于保护与其密切接触的医护人员。"

她在美国科学促进会(AAAS)年会上还提到:"目前已经研发了 SARS 的多种候选疫苗株。"

新毒株

科学家们目前已经掌握了很多有关 SARS 的知识,这些有助于发现和治疗由其他冠状病毒引起的、以往无法诊断的人类疾病。

他们已发现了两种新的毒株:NL63 和 HKU1,可以引起儿童和免疫低下的成人发生肺炎样疾病。

"如果一种动物株再次突变,我们可能遇到一次爆发。但到目前为止,还没有发现人类流行株贮存在动物体内。"

但霍姆斯博士说,可以预料病毒可能会继续从动物传到人类,就像最近出现的禽流感一样。

"与 SARS 流行一样,我们将尽可能多地了解人类和动物体内所有类型的病毒,以对抗这些新出现的、新发的传染病。"

来自 BBC 新闻

http://news.bbc.co.uk/go/pr/fr/-/2/hi/health/4280253.stm

时间:2005/02/20 00:33:34

2. 英文

BBC NEWS

Threat of new Sars outbreak 'low'

By Michelle Roberts

BBC News health reporter, in WashingtonDC

The world is unlikely to face an explosive Sars outbreak like the one of two years ago, say experts.

The strain of the virus that jumped readily between humans probably only exists in lab samples, they believe.

It would take an unhappy accident or a fresh mutation of the virus in an animal host for it to re-emerge, a science meeting in Washington heard.

And even if it did, it could be quickly contained, said Dr Kathryn Holmes from Colorado Uni-

versity.

Low threat

She said scientists had learned a great deal from the epidemic of Sars–Severe Acute Respiratory Syndrome–that began in November 2002 and ended in June 2003.

"Sars is one of the best studied of any emerging infective disease," said Dr Holmes, who has been researching the coronavirus.

"The human epidemic strain is not being harboured in animals"

Dr Kathryn Holmes, Colorado University

"We now have wonderful, very sensitive diagnostic tests and new treatments to fight any outbreak.

"A number of labs have human monoclonal antibodies that neutralise Sars virus.

"These might be used to treat infected individuals or protect the healthcare workers around them.

"There are also multiple vaccine candidates for Sars that have been developed," she told the annual meeting of the American Association for the Advancement of Science (AAAS).

New strains

Scientists now know so much about Sars that this knowledge is helping them find and treat previously undiagnosed human diseases caused by other coronaviruses.

They have discovered two new strains–NL63 and HKU1–which cause pneumonia–like illnesses in children and immuno–compromised adults.

"If an animal strain mutated again we could get an outbreak, but so far as anyone has seen yet, the human epidemic strain is not being harboured in animals."

But Dr Holmes said viruses could be expected to continue to jump from animals to humans, as has been seen recently with avian flu.

"As with the Sars epidemic, we will be protected from these new and emerging diseases by learning as much as possible about all types of viruses in animals and humans."

Story from BBC NEWS:

http://news.bbc.co.uk/go/pr/fr/-/2/hi/health/4280253.stm

Published: 2005/02/20 00:33:34 GMT

附录五 “中华菊头蝠为非典样病毒(SL-CoV)而非非典病毒(SARS-CoV)的贮存宿主——对《自然》杂志Ge文的批评，R. sinicus should be reservoir of SL-CoV but not SARS-CoV：critical comments on Ge et al.'s paper in Nature”转载

目录

一、编委会注

2013年11月在国际顶级杂志*Nature*发表一篇文章[Ge XY, Li JL, Yang XL, Chmura AA, Zhu G, Epstein JH, Mazet JK, Hu B, Zhang W, Peng C, Zhang YJ, Luo CM, Tan B, Wang N, Zhu Y, Crameri G, Zhang SY, Wang LF, Daszak P, Shi ZL. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. Nature. 2013 Nov 28;503(7477):535-8. doi:10.1038/nature 12711. Epub 2013 Oct 30. 以下简称Ge文],摘要中提出错误结论:"中华菊头蝠为非典病毒的贮存宿主(Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV)"。我们即致信编辑部和Ge文的美、中2位通讯作者,列举7方面证据,指出正确结论应为:"中华菊头蝠为非典样病毒(SL-CoV)的贮存宿主";但对方均未就我们的论据正面做出回答。故我们将要点以英文形式发表在《医学争鸣》上[XU De-Zhong, Bernard CK CHOI, ZHANG Lei, SU Hai-Xia, ZHANG Jing-Xia, XU Rui, GAO Jie. R. sinicus should be reservoir of SL-CoV but not SARS-CoV: critical comments on Ge et al's paper in Nature. Negative(医学争鸣), 2014, 5(2):25-27]。

因为此文对理解本书的相关内容很有帮助,并对揭示非典病毒起源的真相十分重要;所以,编委会征得编辑部同意,转载于此,并同时译成中文。

在此,应提醒读者三点。

1. Ge文内容主要属于实验研究,可能大部分作者从事基础医学研究,其题目"Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor."反映的也为实验研究结果,整篇文章内也未就"中华菊头蝠为非典病毒的贮存宿主(Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV)"的学术论点进行举证和讨论。但却在摘要中毫无根据地突然加上此涉及非典病毒(SARS-CoV)起源、具非常重要学术和社会影响力之错误论点或结论(学术上应属于流行病学领域)。学者和公众不得不发问:为何如此蹊跷?

2. 刊登Ge文的刊物为"自然Nature"杂志,在国际上以科学性和严肃性称著,为何容得在文章摘要中出现科学上极不严肃的结论?原因何在?

3. Ge文的美、中2位通讯作者可能均为国际权威;美国的通讯作者更有不少头衔,在许多权威杂志发表评论。然而,为何对我们的问题、在流行病学领域内实际上大多为常识性问题避而不答呢?原因何在?

二、英文原文(PDF 格式截面件)

R. sinicus should be reservoir of SL-CoV but not SARS-CoV: critical comments on Ge et al.'s paper in Nature

XU De-Zhong[1,2], *Bernard CK CHOI*[3], *ZHANG Lei*[2], *SU Hai-Xia*[2], *ZHANG Jing-Xia*[2], *XU Rui*[2], *GAO Jie*[2]

([1]Clinical Epidemiology Unit, Fourth Military Medical University, Clinical Epidemiology Network in China, International Clinical Epidemiology Network, Xi'an 710032, China; [2]Department of Epidemiology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China; [3]Dalla Lana School of Public Health, University of Toronto; Department of Epidemiology and Community Medicine, University of Ottawa, Ontario M5T 3M7, Canada)

The study of the origin of SARS coronavirus (SARS CoV) and SARS-like coronavirus (SL-CoV) is very important for the prevention of novel human infections with these viruses. Recently, Ge et al. suggest that Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV[1]. But this conclusion is incorrect. It should be "Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SL-CoV" [2-7]. The paper also has several methodological problems, leading to errors in the conclusions.

First, no epidemiological report has confirmed that people developed SARS through contact with *R. sinicus* with SL-CoV. Just as the efficacy of a drug should be evaluated by the pharmacological effects not only in laboratory research but also in randomized blinded trials among patients, the reservoir of an infectious disease should not be determined only by laboratory studies but also by epidemiological evidences. In short, the results of epidemiological studies are the gold standard for the determination of reservoir. Many papers confirmed that in addition to patients, civets are a source of infection [8-11]. But civets cannot be a reservoir, because as a reservoir, besides being infection source, must also be able to maintain a continuous spreading of infection among animals and humans.

Second, the conclusion of Ge et al. is not consistent with the epidemiological evidences. There has been no case of SARS since June, 2004 [2,8-12], as predicted by Holmes [12-13]. If "Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV" is true, SARS-CoV cannot disappear for 10 years [2].

Third, the conclusion "Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SL-CoV" has been established by many studies[2-7]. *R. sinicus* carry SL-CoV but not SARS-CoV[4-5].

Fourth, it is inappropriate to compare ACE2 receptors between SL-CoV Rs3367 and RsSHC014 and human/civet SARS-CoVs. In Ge et al.'s paper, the two strains are compared with the SARS-CoVs in terms of "the key amino acid residues (AA)". The key AAs, especially 479 and 487, play an important role in the infectivity and transmissibility of human SARS-CoV. The transmissibility of SARS-CoV in the 2002-2003 epidemic was approximately 1000-fold higher than that of 2003-2004 Guangzhou outbreak because of the variation in AA479 and 487 [12,14]. The strains vary a great deal in AA479 and 487 among bats, humans and civets (Table 1). More importantly, Ge et al. did not include human/civet strains in the Guangzhou outbreak, which are different from not only Rs3367 and RsSHC014 but also 2002-2003 human SARS-CoVs [2, 4, 6, 8,10-11]. Thus,

Author: Xu Dezhong. Master; Director in Clinical Epidemiology Unit, Professor in Department of Epidemiology. Research interest: Epidemiology of infectious diseases. Tel:(029)84774955 Email:xudezh69@163.com

Negative
Vol.5 No.2 2014

there is no significant difference between two strains and previous SL-CoVs.

Fifth, it is important to correct for time confounding, but Ge et al.'s paper failed to do so. Confounding is the most important factor compromising the reliability in many studies. Based upon their finding, just 9 years after the SARS epidemic, that Chinese horseshoe bats carry SL-CoV "which has typical coronavirus morphology, 99.9% sequence identity to Rs3367", they made the conclusion "Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-CoV" [1]. However, during and in the several years after the SARS epidemic, no Rs3367 or RsSHC014 strains were found [2-7]. Therefore, Ge et al. cannot rule out the possibility that two strains were naturally evolved in *R. sinicus* during recent years.

Sixth, Ge et al.'s paper mentioned "the recent demonstration of MERS-CoV in a Saudi Arabian bat". However, the *T. perforates* with MERS-CoV was collected in the area of index case occurrence in Bisha in October, 2012[17].

Seventh, the important comparison on specific 29-nucleotide is missing. The 29-nt (CCAATACAT TACTATTCGGACTGGTTTAT, nt.27866–27894 in Bt-SL-CoV or CCTACTGGTTACCAACCTGAATG GAATAT, nt.27869–27897 in human/civet SARS CoV) is related to pathogenicity, transmissibility and cross-species transmission of SARS CoV. Because 29-nt of Rs3367 and RsSHC014 is identical with SL-CoV, but different from SARS-CoV (Table 1), these two strains should be classified as SL-CoVs.

Table 1 The comparison of different hosts of SARS-CoV and Bt-SL-CoV, occurrence years of strains by amino acid sites 479 and 487, and characteristic 29-nt based on data in the literatures [1-4]

Host	Year of occurrence	Amino acid sites		Characteristic 29-nt
		479	487	
Bat (Bt-SL-CoV, Rp3)	Around 1998	S	V	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866–27894
Bat (Bt-SL-CoV, Rs3367)	Unknown	N	N	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866–27894
Bat(Bt-SL-CoV, RsSHC014)	Unknown	R	A	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866–27894
Palm civet (SARS CoV)	2002-2003 epidemic 2003-2004 Guangzhou outbreak	K, R and N N and R	S S	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt.27869–27897
Human (SARS CoV)	Very early in 2002-2003 epidemic	N	T	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt.27869–27897
	2002-2003 epidemic	N	T	deletion
	2003-2004 Guangzhou outbreak	N, K and R	S	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt.27869–27897

We are afraid that Ge et al.'s conclusion would not only have a negative influence on scientific nature, but also obstruct the research on the true origin of SARS CoV.

[References]

[1] Ge XY, Li JL, Yang XL, et al. Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor[J]. Nature, 2013, 503(7477):535–538.

[2] Xu DZ, Sun HM, Tan YH. SARS CoV no longer exists in nature and population[J]. Negative, 2013, 4(1):22-26. (In Chinese)

[3] Li W, Shi Z, Yu M, et al. Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses [J]. Science, 2005, 310(5748): 676-679.

[4] Yip CW, Hon CC, Shi M, et al. Phylogenetic perspectives on the epidemiology and origins of SARS and SARS-like coronaviruses[J]. Infec Gene Evol, 2009, 9(6):1185-1196.

[5] Tang XC, Zhang JX, Zhang SY, et al. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China[J]. J Virol, 2006, 80(15):7481-7490.

[6] Janies D, Habib F, Alexandrov B, et al. Evolution of genomes, host shifts and the geographic spread of SARS-CoV and related coronaviruses[J]. Cladistics, 2008, 24(2):111-130.

[7] Lau SK, Woo PC, Li KS, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(39):14040-14045.

[8] Song HD, Tu CC, Zhang GW, et al. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(7): 2430-2435.

[9] Xu RH, He JF, Evans MR, et al. Epidemiologic clues to SARS origin in China[J]. Emerg Infect Dis, 2004, 10(6):1030-1037.

[10] Wang M, Yan M, Xu H, et al. SARS-CoV infection in a restaurant from palm civet[J]. Emerg Infect Dis, 2005, 11(12):1860-1865.

[11] Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China[J]. Science, 2004, 303(5664):1666-1669.

[12] Holmes KV. Structural biology. Adaptation of SARS coronavirus to humans[J]. Science, 2005, 309(5742):1822-1823.

[13] Roberts M. Threat of new SARS outbreak 'low' [N/OL]. (2005-02-20). http://news.bbc.co.uk/go/pr/fr /-/2/hi/health/4280253.stm.

[14] Li W, Zhang C, Sui J, et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2[J]. EMBO J, 2005, 24(8):1634-1643.

[15] Memish ZA, Mishra N, Olival KJ, et al. Middle east respiratory syndrome coronavirus in bats, Saudi Arabia[J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(11):1819-1823.

（2014-02-17收稿；2014-03-01修回）

三、中译文

DOI:10.13276/j.issn.1674-8913.2014.02.005

R. sinicus 应为 SL-CoV 的贮存宿主而非 SARS-CoV
——对 Nature 的 Ge XY 等论文之批评意见

徐德忠[1,2], Bernard CK CHOI[3], 张磊[2], 苏海霞[2], 张景霞[2], 徐锐[2], 高洁[2]

(1 国际临床流行病学工作网第四军医大学临床流行病学中心;2 第四军医大学流行病学教研室;3 加拿大渥太华大学流行病学与社会医学教研室)

SARS 冠状病毒(SARS CoV)和 SARS 样冠状病毒(SL-CoV)的起源研究,对于预防此类病毒所致的新发传染病非常重要。最近,Ge XY 等提出“中华菊头蝠(Chinese horseshoe bats)为 SARS CoV 的自然贮存宿主(natural reservoir, reservoir)”[1]。但此结论不正确,应为

"中华菊头蝠为 SL-CoV 的贮存宿主"[2~7]。这篇论文还存在数个方法学问题,导致一些错误的结论。

第一,至今未见流行病学研究报告证实人类因接触携带 SL-CoV 的 *R. sinicus* 而罹患 SARS。如同某种药物之疗效高低,不能仅凭其实验室研究的药理作用,主要应根据临床患者中随机盲法试验的疗效评价;某种传染病的贮存宿主,不能仅凭实验室分子病毒学和分子进化研究结果即下结论,而主要应依据流行病学证据,也即流行病学研究结果才是确定贮存宿主之金标准。多篇论文均证实除患者外果子狸为传染源或传染来源[8~11]。但果子狸尚不能成为贮存宿主。因为贮存宿主不仅能作为传染源,而且必须能贮存病原体并维持其在动物界和/或人群内不断流行。

第二,Ge XY 等的结论不符合流行病学研究的证据。SARS 自 2004 年 6 月至今未见病例[2,8~12]。关于此点,美国知名病毒学家 Holmes KV 早有预见[12~13]。相反,若"中华菊头蝠为 SARS CoV 的自然贮存宿主"的结论成立,SARS-CoV 不会在自然界和人群中消失 10 年[2]。

第三,"中华菊头蝠为 SL-CoV 的贮存宿主"这一论点已被国际上许多研究结果所证实[2~7]。*R. sinicus* 可以长期携带 SL-CoV,但非 SARS-CoV[4~5]。

第四,在 SL-CoV Rs3367 、RsSHC014 和人/果子狸 SARS-CoVs 之间进行 ACE2 受体的比较不合适。在 Ge XY 等论文中,这两类病毒的关键氨基酸位点进行了比较。众所周知,关键氨基酸位点,尤其 AA479 和 487,对 SARS-CoV 毒株之感染力和传播性十分重要。与 2003 年 12 月至 2004 年 1 月广州爆发(下简为广州爆发)相比,2002—2003 年流行的 SARS-CoV 传播性约高 1000 倍,主要是由于 AA479 和 487 的变异[12,14]。蝙蝠、人类和果子狸携带的 SARS-CoV 或 SL-CoV 的关键氨基酸位点 479 和 487 有很大的差异(表 1)。更重要的是,Ge XY等未将广州爆发的人/果子狸分离株列入做比较,这些毒株的 AA479 and 487 位点不仅与 Rs3367 和 RsSHC014 有区别,而且也不同于 2002—2003 年的人 SARS-CoVs[2,4,6,8,10~11]。这反映 2 株 SL-CoV(Rs3367 和 RsSHC014)和既往发现的无本质差别。

第五,Ge XY 等在论文中未排除时间的混杂。混杂因素是造成许多研究结果丧失可靠性之重要原因。其论文中,在 SARS 流行 9 年后,他们发现的中华菊头蝠携带着"具有典型的冠状病毒形态、与 Rs3367 序列有 99.9% 同源性"的 SL-CoV。据此,他们得出了"中华菊头蝠为 SARS-CoV 的自然贮存宿主"的结论[1]。然而,在 SARS 流行期间以及之后的几年中,没有 Rs3367 或 RsSHC014 毒株被发现[2~7]。因此,Ge XY 等不能排除其发现仅是近几年内 SL-CoV 在中华菊头蝠体内自然进化的可能性。

第六,Ge XY 等在论文中提到"最近在沙特阿拉伯的蝙蝠体内发现了 MERS-CoV"。然而,携带 MERS-CoV 的 *T. perforates* 蝙蝠却是在 2012 年 10 月 Bisha 指示病例发病之当时当地采集到的[15]。

第七,缺乏对特征性 29 个核苷酸(specific 29-nucleotide,特征性 29-nt)的比对。特征性 29-nt(Bt-SL-CoV 中为 nt. 27866-27894 CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT,而人/果子狸 SARS-CoV 中为 nt. 27869-27897 CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT)是与 SARS-CoV 的致病性、传播力和跨物种传播密切相关。由于 Rs3367 和 RsSHC014 的特征性 29-nt 与 SL-CoV 一致,但不同于 SARS-CoV(表 1),故这两类毒株应纳入 SL-CoV 内。

我们不无忧虑,Ge XY 等的研究结论不仅会对科学界产生负面的影响,更会阻碍 SARS-CoV 真实起源的科学研究。

表 1　文献中各 SARS-CoV 和 Bt-SL-CoV 之不同的产生时间与宿主、479 和 487 氨基酸位点以及特征性 29-nt 比较[1-8]

Host	Year of occurrence	Amino acid sites		Characteristic 29-nt
		479	487	
Bat(Bt-SL-CoV,Rp3)	Around 1998	S	V	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866-27894
Bat(Bt-SL-CoV, Rs3367)	Unknown	N	N	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866-27894
Bat(Bt-SL-CoV, RsSHC014)	Unknown	N	N	CCAATACATTACTATTCGGACTGGTTTAT, nt. 27866-27894
Palm civet (SARS CoV)	2002—2003 epidemic	K. R and N	S	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt. 27869-27897
	2003—2004 Guangzhou outbreak	N and R	S	
Human (SARS CoV)	Very early in 2002—2003 epidemic	N	T	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATGA, nt. 27869-27897
	2002—2003 epidemic	N	T	deletion
	2003—2004 Guangzhou outbreak	N. K and R	S	CCTACTGGTTACCAACCTGAATGGAATAT, nt. 27869-27897

参考文献(同英文文章)

附录六 “人感染 H7N9 禽流感分布异常及其异常起源之可能”转载

目录

一、编委会注

人感染 H7N9 禽流感(人 H7N9 禽流感,h-H7N9 AI)自 2013 年 2 月于我国长三角地区流行以来,国内外专家发表了不少流行病学研究报告,有关国际组织也公布涉及流行病学的一些通告和评论。令人遗憾,这些文献除描述一些分布数据、得出时间分布与人 H5N1 禽流感有别和可能存在有限的人传人至人外,对下述 4 个问题:①h-H7N9 AI 病毒(h-H7N9 AIV)的来源和起源?②h-H7N9 AI 为何在此时发生在一直未从野禽内分离到该病毒的我国,而不发生在多年来经常从野禽内分离到该病毒的蒙古、韩国以及欧美国家?③结合 SARS,21 世纪 10 多年来两次来无影、去踪不明的新发传染病为何均发生在我国?④h-H7N9 AI、h-H7N9 AIV 和 SARS、SARS-CoV 在流行病学、来源和起源方面有何共同点,又有何差异?均未见有意义的讨论和结论性意见。

而根据我国各级政府和 WHO 网站公布的流行病学资料以及文献报告,我们于 2013 年 5~6 月却发现,人 H7N9 禽流感流行的主要分布特征,和既往人感染 H5N1 或 H9N2 禽流感明显不同,呈异常状态或反常,且有限的分子病毒学研究也显示 h-H7N9 AIV 和 h-H5N1AIV 或 h-H9N2AIV 有别;再结合我们对非典研究结果之启示:人类已进入可由"非自然进化"的病毒引起流行的时代;因而,我们从理论和实践结合、历史和现状比较的宏观视角,对人 H7N9 禽流感的分布特性和三环节[传染源(包括携带的病原体)、传播途径和易感人群]进行了比较全面和深入的分析研究,初步认为:人 H7N9 禽流感和其他人禽流感甚至人类急性传染病的流行自然史明显不符,不能排除 h-H7N9 AIV 异常起源之可能。并成文发表于"中华疾病控制杂志"[徐德忠,张扬,王波,等. 人感染 H7N9 禽流感分布异常及其异常起源之可能,2013,17(8):645-650.]。

由于此文从流行自然史和非自然史比较的高度,系统地阐述了为何人感染 H7N9 禽流感不能排除其非自然起源,对理解本书的相关内容有帮助;所以,编委会征得编辑部同意,转载于此。

当然还应强调,2013 年 6 月至 2014 年 10 月,人 H7N9 禽流感继续流行呈现的特点,更支持了上述观点,除在本书有关章节做了必要的论述外,有关科学研究结果将在另文发表。

二、原文(PDF 格式截面件)

中华疾病控制杂志2013年8月第17卷第8期 · 645 ·

论 著

【编者按】 21世纪初至今，我国已经遭遇两次大的新发传染病流行，留下许多难解之谜。此文按“透过现象看本质”的哲学思维（流行病学常用分析方法），比较全面深入地分析了这次流行强度、地区、传染源栖居点和年龄等分布以及传播方式等方面存在的异常甚至反常，认为其与人禽流感甚至人类急性传染病的流行自然史明显不符，揭示了“不能排除h-H7N9 AIV异常起源之可能”之本质。当然，科学允许探索和争鸣，我们欢迎学者参与讨论！

人感染H7N9禽流感分布异常及其异常起源之可能

徐德忠[1,2]，张扬[3]，王波[1,2]，唐晓凤[4]，张景霞[1]，孙慧敏[1]，张磊[1,2]，陈长生[3]

【摘要】 目的 对今年2月我国发生的人感染H7N9禽流感流行分布和起源进行分析。方法 应用描述性研究，对WHO和我国资料以及相关疾病流行史进行比较。结果 5种异常：流行强度：3个月内病例多，涉11个省市；而人H5N1禽流感7个月仅18例；地区和传染源栖居点：人禽流感（h-AI）应发生在野或家禽已有该型病毒流行之地；虽在韩蒙多国检出H7N9 AIV，但我国从未见；新H7N9 AIV也限在3活禽市场；年龄分布：发病平均年龄为59.02岁，主要原因是h-H7N9 AIV对我国为全新病毒；老人毫无特异免疫，非特异免疫低下，易感性最高；传播方式异常：已有3起家庭聚集，其中1起存在有限的人传人；而人H5N1禽流感首发后7年才有。结论 人H7N9禽流感和人禽流感甚至人兽共患病的流行自然史明显不符，不能排除h-H7N9 AIV异常起源之可能。

【关键词】 禽流感；流感；人；流行病学研究

【中图分类号】R511；R183 【文献标识码】A 【文章编号】1674-3679(2013)08-0645-06

A study on unusual distribution of human infection with H7N9 AIV and the probability of its unusual origin

XU De-zhong[1,2], ZHANG Yang[3], WANG Bo[1,2], TANG Xiao-feng[4], ZHANG Jing-xia[1], SUN Hui-min[1], ZHANG Lei[1,2], CHEN Chang-sheng[3]. 1. *Department of Epidemiology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China*; 2. *Clinical Epidemiology Unit, the Fourth Military Medical University, International Clinical Epidemiology Network, Xi'an 710032, China*; 3. *Deparment of Health Statistics, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China*; 4. *Department of Out-patient, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China*

【Abstract】 **Objective** An epidemic of human infection with H7N9 avian influenza virus [h(n)-H7N9 AIV] has breaking out in China in February, 2013. The aim of the study is to comprehensively explore h-H7N9 AI and its origin. **Methods** The data from WHO, Chinese government and the papers of relevant diseases have been analyzed by descriptive epidemiology. **Results** The results showed that comparing with only 18 cases of h-H5N1 AI during 7 months, an unusual incidence with 131 cases of h-H7N9 AI in 11 provinces within 3 months were determined, and an unusual occurrence location and inhabited areas of n-H7N9 AIV were identified by the presence of H7N9 AIV in many countries including Korea and Mongolia, only with the exception of China, and by n-H7N9 AIV only limited to three live poultry markets. Also, a very unusual age distribution, with mean age of 59.02 years, is observed and the main reason was that the old man with low innate immunity had no specific immunity and the highest susceptibility because H7N9 AIV was a new virus for Chinese, and comparing with occurrence of family clusters in same family after 7 years for h-H5N1 AI outbreak, an unusual transmission mode was proved by three family clusters in the first h-H7N9 AI epidemic in the world and limited human – to – human transmission might be existed in one family of them. **Conclusions** The unusual distributions suggest that h-H7N9 AI markedly differs from h-AI even human zoonotic diseases for natural epidemiological history and its unusual origin cannot be ruled out.

【Key words】 Avian flu; Influenza, human; Epidemiologic studies

(*Chin J Dis Control Prev* 2013, **17**(8): 645-650)

【作者单位】[1]第四军医大学流行病学教研室，陕西 西安 710032
[2]第四军医大学临床流行病学中心，国际临床流行病学工作网，陕西 西安 710032
[3]第四军医大学卫生统计学教研室，陕西 西安 710032
[4]第四军医大学门诊部，陕西 西安 710032
【作者简介】徐德忠（1941－），男，江苏无锡人，教授，硕士。主要研究方向：传染病流行病学。
张扬（1985－），男，陕西咸阳人，在读硕士研究生。主要研究方向：卫生统计。
徐德忠，张扬为共同第一作者
【通讯作者】陈长生，E-mail：chencs@fmmu.edu.cn

我国长三角地区，今年冬末春初突然发生人感染H7N9禽流感（简称"人H7N9禽流感"）流行，第1例于2013年2月19日在上海出现。随后，安徽、江苏和浙江也开始散发，继之多个相邻省份卷入。至5月17日，WHO共收到上报实验室确诊病例（简称"确诊病例"）131例（含台湾输入性1例）（图1），其中36例亡（27.5%）[1]。可见，其流行强度和病死率均不低[2]。

关于人（新）H7N9禽流感病毒（avian influenza virus，AIV）（简称"h-H7N9 AIV"或"新-H7N9 AIV（动物或环境内）"）基因组构成及其系统发育研究已有报告[3,4]；同时，流行病学研究也有报告[2,5]。令人遗憾，后者除描述一些分布数据、得出时间分布与人H5N1禽流感有别和可能存在有限的人传人外，未见有意义的结论性意见。最近报告[6,7]指出，人类已进入可由"非自然进化"的病毒引起流行的时代；因而，对新出现病毒的流行应从更广的视野考虑，给予更密切关注。所以，本文从理论和实践结合、历史和现状比较的宏观视角，综合国内外文献[7-33]，对人H7N9禽流感的分布特性和三环节[传染源（包括携带的病原体）、传播途径和易感人群]进行了比较全面和深入的分析研究，以此提请国内外相关专业学者讨论和重视；并为进一步研究提供某些科学证据和思路。

1 材料与方法

1.1 资料来源 自2013年2月19日至5月17日上报至WHO的131例确诊病例。诊断标准按我国《人感染H7N9禽流感诊疗方案（2013年第1或2版）》[8]。除第1～3例外，所有病例的发病日期、性别、年龄和省市均自WHO公布的系列简报。美国疾病控制与预防中心（CDC）也是应用此来源资料[5]，且本文收集的病例更多，其采至4月29日仅126例，故本文的资料来源不仅可靠，且样本量也大。其他资料主要采于我国CDC等政府机关的公报或实录等，个别为主流媒体网站。美国CDC在上述同篇报告中，也应用了我国CDC网上公布的材料[5]。

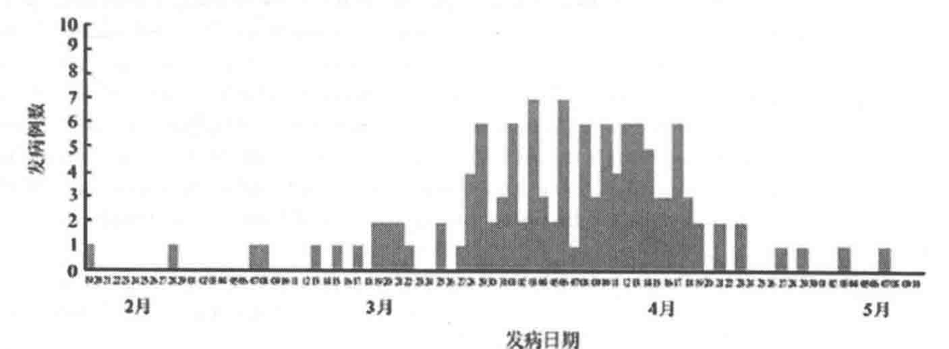
1.2 方法 采用描述性流行病学方法，以图表和数据比较其差异，分析其相关性。和人H5N1或H9N2禽流感进行比较时，后者的资料引自WHO报告或国际权威杂志。图表绘制和统计描述分析采用Excel 2003软件。

2 结果

2.1 人H7N9禽流感流行分布异常

2.1.1 流行强度异常 本次流行近3个月内计131例，涉及上海、安徽、江苏、浙江、河南、北京、湖南、江西、山东、福建和台湾（输入性）11个省市（图1）。可见，流行强度高和范围广。而和10多年前世界首起人类高致病性禽流感、即人H5N1禽流感流行相比，相差十分悬殊。首例人H5N1禽流感，于1997年5月9日在香港发病；但随后近7个月内，仅又发生17例[11-13]。可见，病例少且持续时间长，仅局限于香港。

此种异常，不仅文献中也有论述[2,5]，而且WHO助理总干事福田敬二持类似看法[14]。但均未深入探其原因。



注：本图主体引自WHO；因有10例发病日期不明，未计入；本图发病日期为5月7日的1例可能有误。因同来自WHO"人感染甲型H7N9 AIV—最新简报（2013年5月8日）"[9]指出，新增1例为江西79岁女性，于2013年5月3日发病；此后至5月17日的WHO和中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会（简称"中国卫计委"）简报中均再无新增，故2013年5月3日的1例，应为当时最后一例。而且，中国卫计委"5月6日-5月13日人感染H7N9禽流感疫情信息"[10]中指出，"新增人感染H7N9禽流感病例1例，来自江西。"虽未注明发病日期，但结合WHO简报内容，可肯定为5月3日发病的1例。

图1 我国人H7N9禽流感发病时间分布（2/19－5/10，中国）

Figure 1 The time distribution of h-H7N9 AI (2/19－5/10, China)

2.1.2 地区和传染源栖居点分布异常 人H5N1禽流感在香港流行前1年,已在广东养殖鹅中分离到高致病性H5N1 AIV[11,12];H7型AIV的流行自然史亦然[15]。故按人感染禽流感(简称"人禽流感")的流行自然史论之,人H7N9禽流感首例病人,应发生在已有野鸟或家禽中H7N9 AIV流行之国家;但是事实却相反:虽北美、包括韩国和蒙古的欧亚大陆的野禽内均发现H7N9 AIV,而我国却从未见[3,4,14,31]。

按国内地区和传染源栖居点分布,也见某些异常:发病集中于长三角地区,并迅速向邻省扩展;传染源栖居点更为奇特:上海公布"由国家禽流感参考实验室已经确认的、分离到阳性样本的局限在上海1个活禽批发市场和2个农贸市场。在其他的一些畜禽养殖场、养殖户,还有一些野生鸟类…中,都没有检测到H7N9…"[14,31],此又和人H5N1禽流感不同:1997年在香港人群流行时,在农场和活禽中也出现多起爆发[12,13];同样,H7型AIV的流行相似[15,16]。

然而,人H7N9禽流感此种分布却和严重急性呼吸综合症(SARS)相似。SARS流行先集中在珠三角,且开始3个月内,仅局限于广州及其之西和南面,东和北面无病例。按传染源栖居点分布,更十分类似:SARS病毒(SARS CoV)仅从广州和深圳的2个野生动物市场分离到,在供应其货源的本省和其他省区饲养场均未见[6,7,17-19]。而后者,却是揭示SARS CoV为非自然起源的流行病学反常分布证据之一。

2.1.3 年龄分布异常 此次流行高峰在60(51~78)岁左右,平均年龄为59.02岁(图2)。这完全出乎学者之意料,因为和国内外既往人感染禽流感流行特征截然不同。对此,福田敬二特别指出"我们还看到一些不寻常的情况,例如感染者很多都是老年人,这个原因我们现在还没有办法解释[14]。"

年龄分布主要受两方面影响,一为免疫力,一为接触机会。以往的人禽流感,多见于少年和青壮年,如人H5N1禽流感,老年人发病率低,2008年WHO报告:平均年龄为21.7岁,中位数年龄20岁[12]。因此,可以从流行病学推断,h-H7N9 AIV对我国人群是一种全新的病毒,即和h-H7N9 AIV或新-H7N9 AIV或H7N9 AIV的同类病毒在我国人群中从未流行过,此也符合农业部专家的观点。以传染病流行病学理论和实践均可证明,虽然有些传染病,如感冒,细菌性痢疾,各型流行性感冒等感染后产生的特异性免疫力不牢固,可反复受染,但因多次累积或交

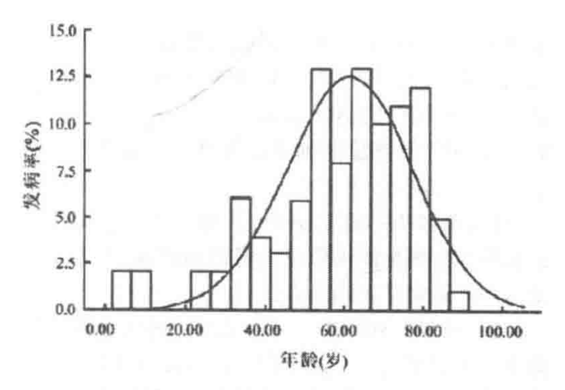


图2 人H7N9禽流感年龄分布(2/19-5/17,中国)

Figure 2 The age distribution of h-H7N9 AI (2/19-5/17, China)

叉免疫而具一定免疫力;因此,凡能在人群中流行的急性传染病,老年人群均较年轻人具稍高的特异性免疫力,所以呈低发病态势。故这次老人多发,最可能的解释为:h-H7N9 AIV是全新病毒,老人毫无特异免疫力,而各种功能退化,非特异免疫力低下,且常伴随慢性病,相对于青壮年其易感性必然更高。

当然,老人高发也有暴露机会的因素,后者作用虽不如上述,但不能排除。

2.1.4 传播方式异常 此次H7N9人禽流感,很可能存在有限的人传人。至今,已有3起家庭聚集病例。对此,国内外有3种看法:(1)排除有限的人传人,家庭聚集由共同或先后暴露于带病毒的家养禽或鸽或环境所致;(2)是否存在有限的人传人,无法得出明确结论,也不能解释家庭聚集;(3)不排除甚至很可能存在有限的人传人[2,5],但需深人调查和分子病毒学证据。

本文对公开信息较多、而文献[2,5]中尚未分析的一对夫妻进行研究[32]:妻於某3月27日发病,而夫顾某是4月1日,相隔5天。人禽流感的潜伏期为2~7天,常见为3~5天;最短潜伏期为2天,即使3天,夫妻发病间隔也已超过。且妻病7天即亡,病情极重,推测排病毒可能量大而频繁,妻发病时又未明确为人H7N9禽流感,夫不离左右又无防护措施,受染概率必高。至于接触邻居家养禽受染,本次流行中,尚无先例,且检测均阴性;共同暴露,应为爆发,本次流行中也不存在。故后两者均可排除。因而,从流行病学上判断,这对夫妻很可能为有限的人传人;相反,尚未见可排除此可能的有力证据。当然,分子水平的结论有待于病毒学研究。

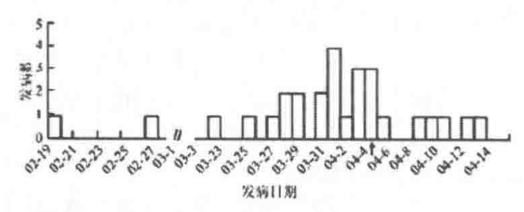
再次和人H5N1禽流感比较,后者自1997年侵入人群后,2003年才再发生并在多国流行;故其家

庭聚集性和有限的人传人或共同暴露,约在首例发病后7年才见[11-13,22-24]。故和本次流行又相差悬殊、后者应为异常无疑。

2.2　人H7N9禽流感的传染源及其主要流行环节的切断

2.2.1　人H7N9禽流感的传染源　迄今各型人禽流感的传染源是受染带毒的野禽和家禽;病人尚不能作为严格意义上的传染源。

如下资料说明,人H7N9禽流感的传染源主要为市场内活禽:(1)已如前述,上海采集的15 000多份样品内,分离到新H7N9 AIV的,仅局限在1个活禽批发和2个农贸市场;他处均未检出[14,31];(2)有暴露史者,约72%为和市场活禽之接触[2,5,31];(3)上海防控部门指出:"(在32例中)…30个…,或多或少有禽类的直接或者说间接的暴露史,"[14];(4)封闭活禽市场后,防控流行的效果十分明显(图3)。



注:市府4.3~6关闭所有活禽市场

图3　上海人H7N9禽流感发病时间分布和关闭活禽市场之影响

Figure 3　The time distribution of h-H7N9 AI in Shanghai and effects of closing live poultry markets

2.2.2　主要流行环节的切断　防控传染病流行的基本策略为:监测之同时打破流行三环节,且以最主要最薄弱环节为主兼顾其他2个。前述已证明,这次流行的传染源主要为市场活禽。故管理传染源、即对市场活禽采取可靠有效的针对性措施是防控之关键。

上海市除启动流感流行三级防控应急预案外、又下发针对禽类市场的多个条例,以突破传染源这一环节;特别是4月3日重申严禁经营野禽并实地检查;6日封闭全市活禽市场,起到明显遏止作用[20,21]。图3可见,4月1~4日为高峰期,发病11例;而3~6日切断传染源环节后,经1个最长潜伏期发病急速下降,14日后再无新病例。而相比较,当时全国却在高峰期(图1)。

3　讨论

人禽流感自1997年发生以来,其流行史显示,出现之前,该型AIV首先间断或持续在野鸟和家禽内流行,经多年后,且通常由低致病性经突变进化至高致病性,才侵入人群[3,15,22,23]。人H5N1或H7型禽流感均如此[11-13,15,22]。

但是,这次人H7N9禽流感流行却非常奇特,甚至史无前例。此前在亚洲,罕见哺乳动物受染H7型AIV;而全球尚未发现N9型AIV能传染人[15]。以史推论,人H7N9禽流感首次流行,应发生在包括韩蒙等欧亚美洲野禽内检出H7N9 AIV的国家,而非从未检出的我国[3,4,14,31]。这不是偶发或巧合,从历史和宏观视之,应为异常或反常。

3.1　人H7N9禽流感流行的主要分布明显异常　此次流行在强度、地区、年龄和传播方式等特征存在反常。此点,实际上作者早于5月5日对媒体提及[33]。虽然,h-H7N9 AIV是新出现的病毒,甚至是人类中从未流行的全新病毒;为H7病毒的HA基因、N9的NA和H9N2的6个内部基因的重配病毒[3,4,14,31]。但h-H7N9 AIV仍归属人AIV(h-AIV),也属AIV;故应具h-AIV和AIV所致病的共同规律、包括流行病学规律;同样,其属人兽共患病病毒,也属人类病毒,故应具人兽共患病和人类病毒病的共同规律。因此、作为新病毒,可呈现不同于既往h-AIV所致疾病的特点;但必然不可突破上述共同规律的底线,主要为2条:(1)所致疾病不能违反人禽流感和禽流感的共同规律;(2)所致疾病不能违反人兽共患病和人类病毒病甚至人类传染病的共同规律。

换言之,h-H7N9 AIV所致人禽流感可在流行强度、地区、年龄和传播方式等方面和人H5N1禽流感等人禽流感不一致。可是也必然:①不能相差悬殊、不能反常;②不能完全、整个、彻底不相同。突破此,可反映其可能为非正常(或非自然)进化所致病原体。人H5N1禽流感起源地——香港近7个月内、仅发生18例、且局限一地;而人H7N9禽流感在11个省市近3个月计131例[1,2,5,11-13]。两者在家庭聚集和/或共同暴露的传播方式上,也相差悬殊:人H5N1禽流感在首例发病后7年才见家庭聚集和/或共同暴露[11,12,15,22-24],而人H7N9禽流感首次流行即有3起[2,5,14,31]。

尤令人惊异者,年龄分布之截然不同:老年人高发。本研究显示,平均年龄为59.02岁;最近报告用"中位数"表示,为61~63岁[2,5,14,31]。而人H5N1禽流感,WHO报告:平均年龄为20岁,90% <40岁[24]。应用流行病学观点分析,人禽流感大多尚未适应于人,有些正在适应进程中;而人甲(A)型流感已较好适应于人,可致全球流行。故以2009年新(猪)甲型H1N1流感大流行为例,丹麦报告年

龄别发病率:0～14 岁 111/10 万，而 ≥65 岁: 17/10 万，前者为后者的 6.5 倍[25]，英国和新西兰相似[25,26]，我国亦然[27,28]：如香港，年龄别发病率 5～14 岁为43.4%，而 30～59 岁仅 4%～4.6%，相差几达 10 倍。有人认为[5,14]，由于低年龄组的人 H7N9 禽流感隐性感染或轻型病例未被发现，老年人群之高发可能被高估。此种现象很可能在其他人禽流感和人甲型流感也存在；并不足于解释如此悬殊的差异。故上述数据表明，不仅是人禽流感，且人甲型流感的年龄分布和人 H7N9 禽流感迥然不同；若仔细比较，恐和其他人兽共患病也存在天壤之别；甚言之，60 岁左右为发病高峰的急性传染病，在人类中绝无仅有，故人 H7N9 禽流感年龄分布不仅是异常，应为反常，和人类急性传染病的流行自然史反常。

3.2 人 H7N9 AIV 的起源 由于本次流行自始至今仅 3 个半月，且研究尚不多，故讨论 h-H7N9 AIV 的起源及其机制为时过早；然其对人类健康和世界威胁却不可估量，且从现有流行病学特征、分子病毒学和系统发育学的初步探索，已可窥见某些端倪，因而应在此讨论，为深入全面研究提供思路。

上已论及，此次 h-H7N9 AIV 出现和既往 h-AIV 大相径庭。首先，我国禽流感和人禽流感流行，多年来颇受国际组织和各国的关注；因而各级政府和有关专家尽其所能，非常密切监测其疫情和病原学发展趋势。这在国内外有目共睹。但结果为，虽在周边国家和欧亚美均检出 H7N9 AIV，而我国始终未现。因此，突然在长三角地区发生流行，显然违反了 h-AIV 产生及其所致流行之自然史。

第二，流行之前，从未在野禽、家禽、人或其他动物中检出 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV。同时，其 8 个基因虽已基本查清：HA 来自 H7 型 AIV，NA 自 N9 型，其他 6 个基因均自 H9N2 AIV；但除 HA 基因外，其他 7 个基因具体由哪些 AIV 株重配而成，结果不一，尤其非常重要的 NA。我国学者认为，NA 可能来自 A/wild bird/Korea/A14/2011[3]，而日本学者则为，自 A/mallard/Czech Republic/13438-29K/2010(H11N9)[4]；前者对其他 6 个基因的结论，均来自 A/brambling/Beijing/ 16/ 2012，而后者，除 PB2、PA 基因相同外，其他 4 个来自我国其他省份的 H9N2 AIV。上述差异，不仅反映 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 基因的来源复杂，而且其进化过程之曲折。

第三，现可在学术(包括流行病学、临床特征、分子病毒学和分子进化等)上肯定，SARS CoV 是“非自然进化”所致，在自然界不存在其直接祖先和贮存宿主；由此，除实验室外，SARS CoV 已从人群和动物界消失[6,7,33]。病毒经非自然(基因改造)进化产生，自 2 篇权威论文[29,30]发表后已成定论；但后者能否公开发表，曾在有关机构和学术界经过 1 年的审查和讨论；值得关注的是，这 2 个研究的对象正是 AIV；更值一提：此 2 文在今年新英格兰医学杂志对发现 h-H7N9 AIV 的评论 Uyeki TM, Cox NJ. Global concerns regarding novel influenza A (H7N9) virus infections. N Engl J Med. 2013 May 16; 368 (20):1862－1864 中，作为第 1－2 篇索引文献加以引用。而且，实际上，上世纪 90 年代在一些会议信息、媒体评论和论文引文中，早已零星透露发展非自然进化(基因改造)技术的消息和资料[6]。可以深信，2002 年即能非自然进化产生 SARS CoV，又经 10 年，在高技术突飞猛进的时代，非自然进化方法必然得到长足之发展。因此，根据我们研究 SARS CoV 起源的积累和掌握的传染病流行病学理论及其实践，推测 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 和 SARS CoV 不同，很可能找到其贮存宿主：某种特殊的野鸟或禽类甚至为人类；但其直接祖先恐难探讨。然而，后者对我国和人类的危害更甚。

综上，不能排除 h-H7N9 AIV 或新-H7N9 AIV 异常起源之可能。

志谢 感谢第四军医大学校图书馆苏春萍副研究馆员加班帮助收集文献

【参考文献】

[1] WHO. Human infection with avian influenza A(H7N9) virus - update [EB/OL]. (2013-05-17) [2013-05-19]. http://www.who.int/csr/don/2013_05_17/en/index.html.

[2] Li Q, Zhou L, Zhou M, Chen Z, et al. Preliminary Report: Epidemiology of the Avian Influenza A (H7N9) Outbreak in China [J]. N Engl J Med, 2013. [Epub ahead of print]

[3] Gao R, Cao B, Hu Y, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus [J]. N Engl J Med, 2013, 368 (20):1888-1897.

[4] Kageyama T, Fujisaki S, Takashita E, et al. Genetic analysis of novel avian A(H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013 [J]. Euro Surveill, 2013, 18 (15):20453.

[5] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of Avian Influenza A(H7N9) Virus Causing Severe Human Illness-China, February-April 2013 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2013, 62(18):366-371.

[6] 徐德忠，孙慧敏，谭雅慧. 现在自然界和人群中已不存在非典病毒 [J]. 医学争鸣, 2013, 4(1):22-26.

[7] 徐德忠，张磊，孙慧敏，等. 流行病学异常分布有力证明 SARS

CoV 非自然之起源 [J]. 医学争鸣, 2013,4(4):6-9.

[8] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 关于印发《人感染 H7N9 禽流感诊疗方案(2013 年第 2 版)》的通知[EB/OL]. (2013-04-10)[2013-05-19]. http://www.moh.gov.cn/mohyzs/s3585/201304/826ca1fb686f41ab9e8938ecdfa46a70.shtml.

[9] WHO. 人感染甲型 H7N9 禽流感病毒——最新简报[EB/OL]. (2013-05-20)[2013-06-01] http://www.who.int/csr/don/2013_05_08/zh/index.html.

[10] 中国生和计划生育委员会. 5 月 6 日-5 月 13 日人感染 H7N9 禽流感疫情信息 [EB/OL]. (2013-05-13)[2013-06-02] http://www.moh.gov.cn/mohwsyjbgs/s3578/201305/abeb7ebe0f3c43ecb6ce683bde9278a1.shtml.

[11] WHO. H5N1 avian influenza: timeline of major events [EB/OL]. (2013-12-17)[2013-05-30]. http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/en/.

[12] WHO. Update: WHO-confirmed human cases of avian influenza A (H5N1) infection, November 2003-May 2008 [J]. Weekly epidemiological record, 2008, 83(46):413-420.

[13] Subbarao K, Klimov A, Katz J, et al. Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness [J]. Science. 1998,279(5349):393-396.

[14] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中国——世界卫生组织人感染 H7N9 禽流感防控联合考察组通报会文字实录[EB/OL]. (2013-04-24)[2013-05-28]. http://www.moh.gov.cn/wsb/pxwfb/201304/fae330ce6e7644c8a49ad02e12b50c9b.shtml.

[15] Alexander DJ. An overview of the epidemiology of avian influenza [J]. Vaccine, 2007,25(30):5637-5644.

[16] Jonges M, Bataille A, Enserink R, et al. Comparative analysis of avian influenza virus diversity in poultry and humans during a highly pathogenic avian influenza A (H7N7) virus outbreak [J]. J Virol, 2011,85(20):10598-10604.

[17] Chinese SARS Molecular Epidemiology Consortium. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China [J]. Science, 2004,303(5664):1666-1669.

[18] Kan B, Wang M, Jing H, et al. Molecular evolution analysis and geographic investigation of Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus-like virus in palm civets at an animal market and on farms [J]. J Virol, 2005, 79(18):11892-11900.

[19] Tu C, Crameri G, Kong X, et al. Antibodies to SARS coronavirus in civets [J]. Emerg Infect Dis, 2004,10(12):2244-2248.

[20] 上海市卫生和计划生育委员会. 本市防控人感染 H7N9 禽流感情况通报(4 月 3 日) [EB/OL]. (2013-04-03)[2013-05-24]. http://wsj.sh.gov.cn/website/b/103797.shtml.

[21] 上海市农业委员会办公室. 市农委强化 H7N9 禽流感防控工作力度[EB/OL]. (2013-04-06)[2013-05-25]. http://e-nw.shac.gov.cn/zfxxgk/zwxw/xumuye/201304/t20130406_1339881.htm.

[22] Sedyaningsih ER, Isfandari S, Setiawaty V, et al. Epidemiology of cases of H5N1 virus infection in Indonesia, July 2005-June 2006 [J]. J Infect Dis, 2007,196(4):522-527.

[23] 余宏杰, 陈裕旭, 舒跃龙, 等. 中国大陆首例人感染禽流感病毒(H5N1)的调查与确认 [J]. 中华流行病学杂志, 2006,27(4):281-287.

[24] WHO. Epidemiology of WHO-confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) infection [J]. Wkly epidemiol rec, 2006, 81(26):249-257.

[25] Kelly H, Peck HA, Laurie KL, et al. The age-specific cumulative incidence of infection with pandemic influenza H1N1 2009 was similar in various countries prior to vaccination [J]. PLoS One, 2011,6(8):e21828.

[26] Miller E, Hoschler K, Hardelid P, et al. Incidence of 2009 pandemic influenza A H1N1 infection in England: a cross-sectional serological study [J]. Lancet. 2010,375(9720):1100-1108.

[27] Wu JT, Ma ES, Lee CK, et al. The infection attack rate and severity of 2009 pandemic H1N1 influenza in Hong Kong [J]. Clin Infect Dis, 2010,51(10):1184-1191.

[28] 林梅艳, 吴水新, 邓小如, 等. 2009~2010 年龙岩市甲型 H1N1 流感流行特征分析 [J]. 预防医学论坛, 2012,18(9):封 2, 656.

[29] Imai M, Watanabe T, Hatta M, et al. Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets [J]. Nature, 2012,486(7403):420-428.

[30] Herfst S, Schrauwen EJ, Linster M, et al. Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets [J]. Science, 2012,336(6088):1534-1541.

[31] WHO. WHO: China—WHO Joint Mission on Human Infection with Avian Influenza A(H7N9) Virus Mission Report [EB/OL]. (2013-05-20)[2013-06-01]. http://www.flu.org.cn/en/news-17223.html.

[32] 京华时报. 上海夫妻先后感染 H7N9 [EB/OL]. (2013-04-15)[2013-5-29]. http://sh.sina.com.cn/citylink/jk/t_xa/2013-04-15/1525195242.html.

[33] 陕西省应急办. 陕西省应急管理专家徐德忠教授谈"SARS 起源之谜与 H7N9 分布异常" [EB/OL]. (2013-05-08)[2013-05-30]. http://yjb.shaanxi.gov.cn/0/1/4/23/57039_3.htm.

(收稿日期:2013-06-23)
(修回日期:2013-06-24)

(杨玫校)

非典非自然起源
和人制人新种病毒基因武器

策划编辑：孙　宇
责任编辑：吕连婷
封面设计：青鸟意讯艺术设计


ISBN 978-7-5163-0587-4
9 787516 305874
定价：50.00元